ANNALES

DE L'INSTITUT PASTEUR

SCEAUX. — IMPRIMERIE CHARAIRE ET FILS.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

(JOURNAL DE MICROBIOLOGIE)

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

Et un Comité de rédaction composé de MM.

CHAMBERLAND, chef de service à l'Institut Pasteur,
Dr **GRANCHER**, professeur à la Faculté de médecine,
NOCARD, directeur de l'École vétérinaire d'Alfort,
Dr **ROUX**, chef de service à l'Institut Pasteur,
Dr **STRAUS**, professeur à la Faculté de médecine.

TROISIÈME ANNÉE
1889

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

1889

3me ANNÉE. JANVIER 1889. N° 1

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

L'INSTITUT PASTEUR

L'Institut Pasteur occupe un terrain de 11,000 mètres, situé au n° 25 de la rue Dutot, à Vaugirard. Il se compose de deux grands corps de bâtiment parallèles réunis par un troisième perpendiculaire aux deux premiers, et qui en occupe l'axe. Des bâtiments annexes sont construits dans les cours et jardins.

Le bâtiment en façade sur la rue Dutot contient, à droite, le logement de M. Pasteur. A gauche, on y trouve, au rez-de-chaussée, le laboratoire de M. Pasteur et tout ce qui concerne le service de préparation et d'expédition des vaccins charbonneux et autres; au premier, une belle salle carrée, dont le plafond, à caissons, est soutenu par des colonnes cannelées, et qui sert de bibliothèque. Neuf grandes fenêtres y versent de la lumière à profusion; une table couverte de journaux scientifiques en occupe le centre, et, autour de la salle, des vitrines contiennent les ouvrages et les collections. Ces publications sont à la disposition des travailleurs, qui peuvent les consulter sur place, mais jamais les emporter.

L'étage placé au-dessus de la bibliothèque est consacré au logement des préparateurs.

De grandes galeries de 4m,50 de large, largement éclairées, réunissent tous les étages de ce corps de bâtiment à ceux du second corps, entièrement occupé par les laboratoires, et divisé

en deux ailes ayant chacune 25 mètres de longueur sur près de 15 mètres de large.

Dans l'aile droite, on trouve au rez-de-chaussée le service de la rage. Les malades entrent d'abord (V. fig. 1) dans une salle d'attente entourée de bancs, chauffée et bien éclairée. Ils pas-

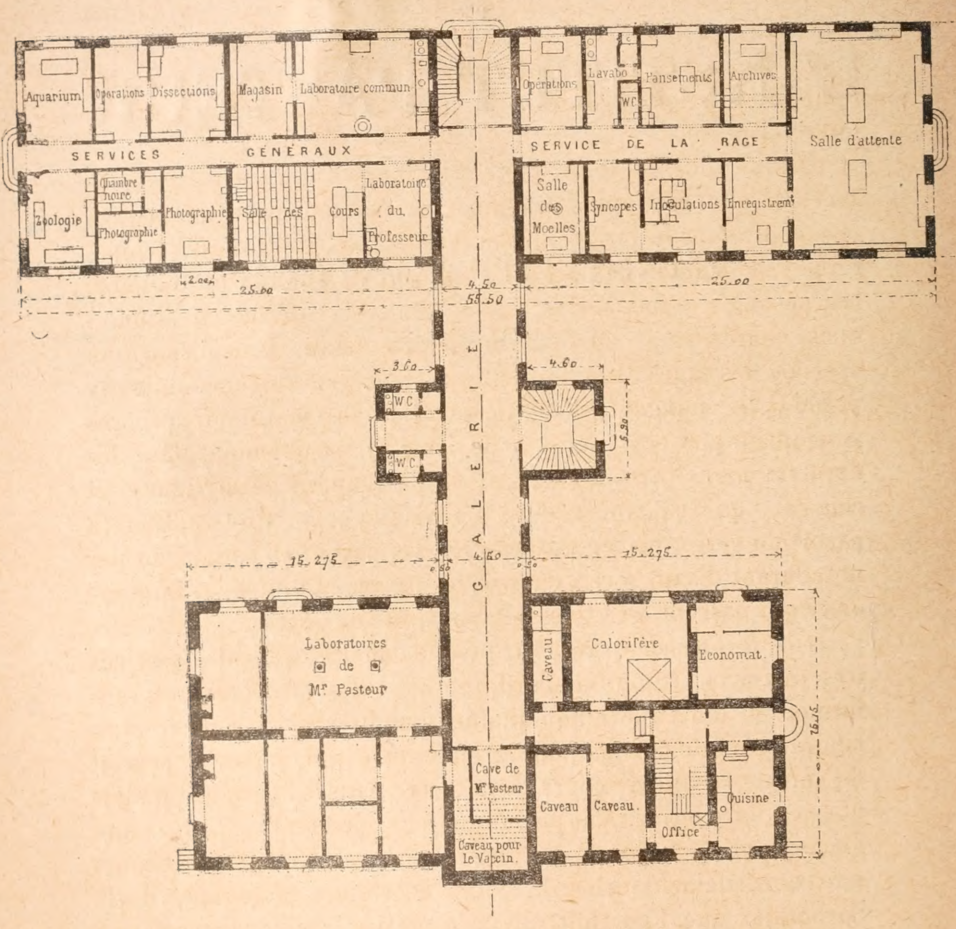


Fig. 1. — Plan du rez-de-chaussée.

sent de là dans la pièce qui sert à l'enregistrement et à la vérification des présences ; puis de celle-ci, dans la salle où on les inocule. Ceux d'entre eux qui éprouveraient un malaise passager trouveront à côté, dans une petite salle spéciale, un lit de repos et des soins. Les autres s'en iront, sans mélange possible avec ceux

qui arrivent, par le couloir central, en s'arrêtant, si cela est nécessaire, dans une salle affectée au pansement des plaies amenées par la morsure. Une salle d'archives, une salle d'opérations, un lavabo et des cabinets spéciaux complètent le service.

Tout à côté, se trouve la salle de préparation des moelles. Des étagères fixées au mur permettent d'exposer les flacons contenant les moelles à l'action d'une température de 23°, maintenue constante par un poêle à gaz muni d'un régulateur. Un tambour intérieur réduit les rentrées d'air extérieur quand on ouvre la porte.

Disons tout de suite, pour terminer ce qui est relatif à ce service, que les lapins trépanés et en incubation de la rage occupent, dans le jardin, un local spécial, chauffé aussi à température constante, de façon à uniformiser autant que possible les périodes d'incubation, et à amener leur mort, à quelques heures près, au bout du temps voulu. Une disposition spéciale des cages dans lesquelles restent renfermés ces animaux permet de changer leurs litières et de les maintenir propres pendant toute leur période de survie, spécialement dans les derniers jours, au moment où ils deviennent paralytiques, et cela sans qu'il soit nécessaire d'ouvrir la cage. Une gouttière à parois de verre, placée au-dessous des cages, et parcourue par un courant d'eau, sert à enlever les urines et toutes les immondices qui passent au travers du sol troué des cages.

Aile de gauche. — Nous trouvons dans cette aile des services très distincts. Citons d'abord une salle de cours pouvant renfermer en tout une cinquantaine d'auditeurs, et séparée d'un laboratoire attenant par une grande baie qui, ouverte, permet de voir de la salle de cours ce qu'on fait dans le laboratoire, mais qui peut être fermée soit par un grand tableau noir, soit par une glace dépolie pour les projections lumineuses. Cette salle de cours sera normalement celle du cours de chimie biologique de la Sorbonne, que l'administration a désiré voir transporter à l'Institut Pasteur, et qui y entre en effet avec son personnel, son matériel et ses crédits. M. Duclaux, qui est en ce moment le titulaire de cette chaire, ouvrira donc en février, dans cette salle, un cours de même nature que celui qu'il a fait jusqu'ici à la Sorbonne, mais ce cours ne sera pas le seul professé à l'Institut Pasteur. En dehors du cours de microbie pratique professé par

M. Roux, on demandera de temps en temps, soit aux travailleurs de l'Institut, soit à des personnes étrangères, des exposés de leurs travaux et de leurs plus récentes découvertes. A cette habitude qui existe déjà dans plusieurs laboratoires de France et de l'Étranger, professeur et auditeurs trouvent également leur compte.

A côté de la salle de cours se trouve un laboratoire photographique, destiné surtout à la reproduction des objets microscopiques. Dans la salle voisine de l'amphithéâtre est disposé l'appareil photographique de M. Roux dont nous avons donné la description dans le tome I de ces *Annales*. Les deux pièces contiguës serviront de salle de manipulation et de chambre noire.

A l'extrémité du pavillon, à droite et à gauche du couloir central, on trouve deux pièces carrelées destinées aux recherches sur les animaux aquatiques. Elles forment une partie du domaine de M. Metchnikoff, qui y a installé divers aquariums. Les deux pièces marquées sur le plan *opérations* et *dissections* serviront surtout aux expériences sur les grands animaux, qu'une porte, à plain-pied du sol, permet d'y introduire. Le pavé bétonné, en pente vers un égouttoir, permet de les nettoyer du sang et des immondices auxquelles donne toujours lieu toute opération ou toute dissection.

Enfin, le restant de cet étage est occupé par un magasin et un laboratoire affectés aux services généraux. C'est là que sera faite la préparation en grand des bouillons, de la verrerie flambée, de l'eau distillée, de l'alcool absolu. Là se trouvera aussi le souffleur de verre, chargé de fournir aux travailleurs les plus simples des objets en verre soufflé dont ils pourraient avoir besoin pour leurs études.

Un large escalier, placé au fond de la galerie centrale, met les laboratoires du rez-de-chaussée en communication facile avec ceux des étages supérieurs auxquels nous arrivons maintenant.

Premier étage. — Le premier étage (fig. 2) se compose de deux parties symétriques, à droite et à gauche de la galerie. Celle de gauche est consacrée à la microbie générale, placée en ce moment dans les attributions de M. Duclaux; celle de droite, à la microbie pratique, à laquelle préside M. Roux. Dans les deux, un couloir

central conduit à une vaste salle de travail carrée, ayant à peu près 12 mètres de côté, et éclairée par neuf grandes fenêtres. Sept tables de travail occupent le pourtour de la salle ; elles sont

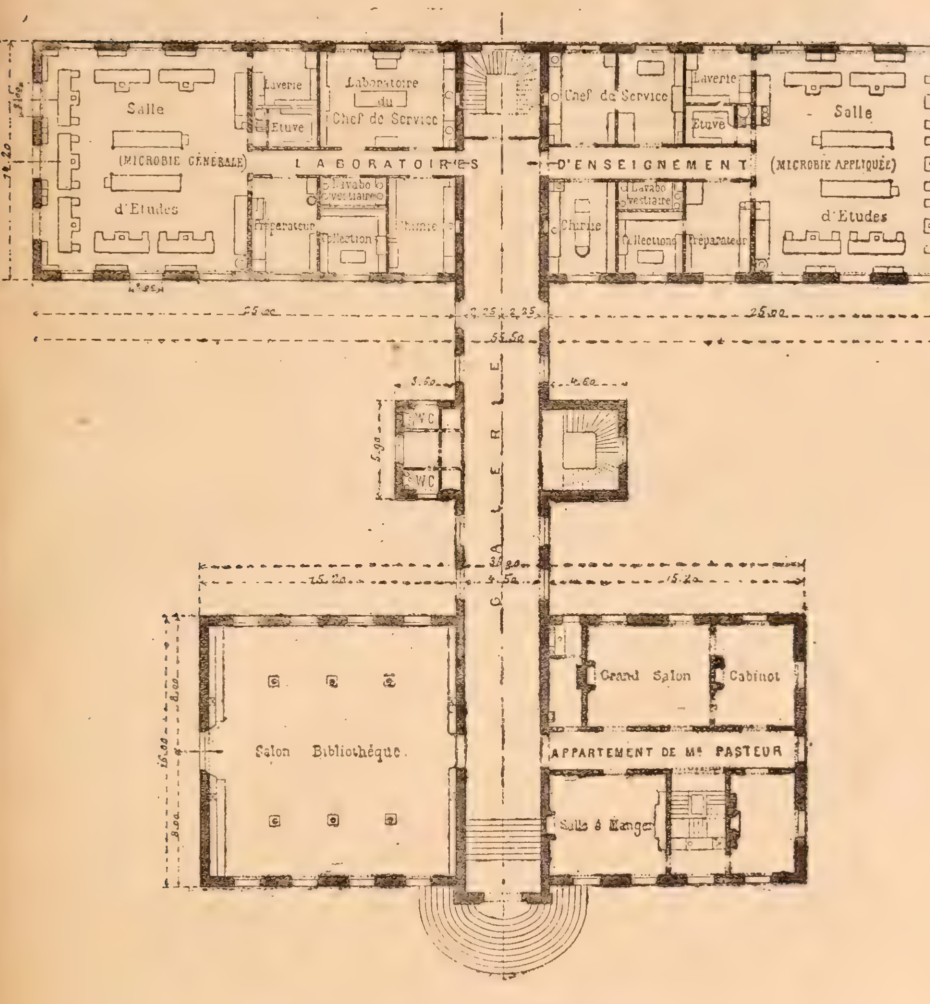


Fig. 2. — Plan du premier étage.

couvertes d'une plaque épaisse de lave de Volvic, émaillée à la surface, et ayant l'aspect d'une immense plaque de porcelaine. Elles sont à deux places. Chaque travailleur aura devant lui, dans la direction de la fenêtre, son microscope et ses instruments

de travail, à côté, à sa droite ou à sa gauche, du gaz qu'il pourra conduire où il voudra, et de l'eau qu'une cuvette, également en lave émaillée, laisse écouler dans un caniveau qui fait le tour du laboratoire. Une planchette à tiroir, placée de l'autre côté de l'avancement central qui porte la cuvette, permet au travailleur de se faire un petit réduit où il est entouré de tout ce qu'il lui faut. Mais la consigne générale est qu'à la fin de la journée tout ce qui est sur les tables, sauf le microscope, soit enfermé dans les deux petites armoires fixées à la muraille et mises à la disposition du travailleur. Cela est absolument nécessaire pour le nettoyage journalier de la salle et des tables.

Il en sera de même pour les deux tables placées, parallèlement l'une à l'autre, au centre de la salle, et sur lesquelles se feront toutes les grosses opérations de chimie (évaporations, distillations, calcinations, etc.), qui seraient impossibles sur les tables d'élèves ; de même encore pour les paillasses placées sous les hottes. Sous ces hottes, les travailleurs trouveront les fours à flamber et les autoclaves nécessaires.

En outre des étuves d'Arsonval, laissées dans le laboratoire commun, les élèves auront à leur disposition une étuve commune (fig. 2) qui se compose en réalité de trois pièces : une pièce d'entrée, à température un peu variable, contenant l'appareil de chauffage et destinée surtout à servir de matelas d'air. Une seconde pièce, ayant à peu près 3 mètres sur $2^{m},50$ et 2 mètres de hauteur, est chauffée par circulation d'eau chaude et sera l'étuve véritable. Au-dessus d'elle, et chauffée par son voisinage, se trouve une autre pièce à température intermédiaire entre celles des deux précédentes. Cet ensemble d'étuves n'a que des surfaces de refroidissement très faibles, et est limité partout par des cloisons intérieures. Il est séparé du mur des pavillons par une pièce qui sert de laverie, et où va se réunir toute la verrerie salie dans le laboratoire.

Le laboratoire du préparateur, contigu avec ce laboratoire commun, et communiquant directement avec lui, permet un contact continu et une surveillance constante ; c'est seulement par ce laboratoire qu'on peut pénétrer dans la salle des collections dont le préparateur reste responsable. Un lavabo-vestiaire et un laboratoire, destiné surtout aux grosses opérations de chimie biologique, complètent ce qui est nécessaire au service.

Le laboratoire et le cabinet du chef de service sont placés symétriquement dans les deux ailes, à l'entrée du couloir qui conduit au laboratoire commun.

Second étage. — Le second étage ne contient plus de laboratoire d'enseignement ; il est formé d'une série de pièces, desservies par un couloir, et destinées à devenir des laboratoires de recherches, aménagés au gré des savants qui les occuperont. Ces savants y auront toute liberté pour leurs travaux, et pourront, au besoin, réclamer les conseils et la direction de l'un quelconque des chefs de service de l'Institut. Néanmoins, tout ce qui concerne le matériel et le fonctionnement de leurs laboratoires restera placé sous la conduite et la responsabilité du chef du service installé dans l'aile où ils seront reçus. Dans l'aile gauche est le service de la microbie appliquée à l'hygiène, sous la direction de M. Chamberland ; dans l'aile droite, le service de la microbie comparée, sous la direction de M. Gamaleïa.

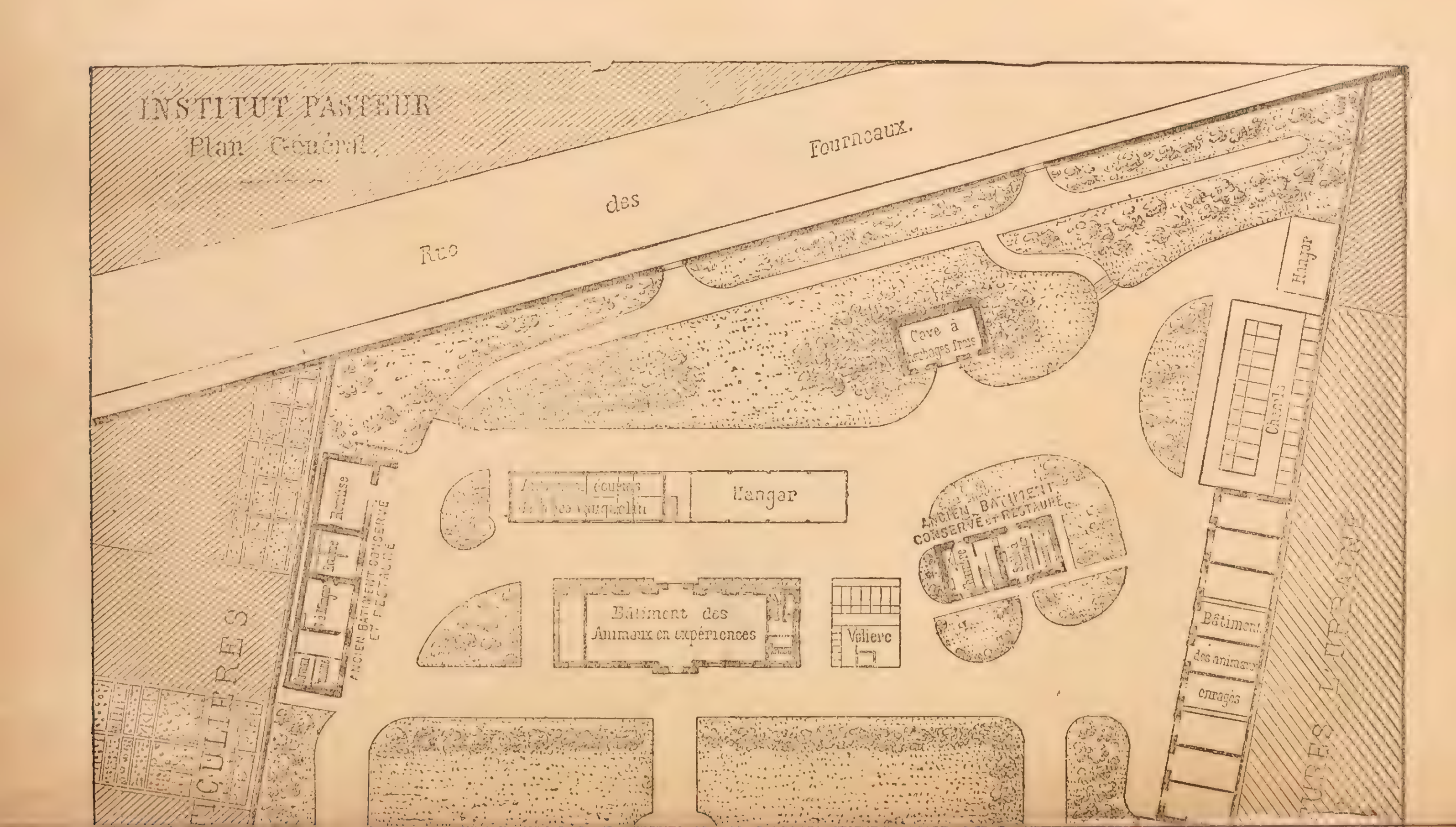
Dans chacun de ces services, il y a, en dehors des étuves particulières dont les travailleurs pourraient avoir besoin, une étuve générale, construite sur le modèle de celle du premier étage, mais plus vaste, et en outre, un laboratoire commun pour toutes les opérations (flambages, préparation des gélatines ou des bouillons, etc.), qui exigent un outillage spécial, et d'usage intermittent.

Annexes. — Dans le jardin qui entoure le bâtiment principal, se trouvent disséminées (Voir fig. 3) d'autres constructions moins importantes, formant les annexes nécessaires au fonctionnement régulier. C'est d'abord un bâtiment (fig. 4) parallèle au grand pavillon des laboratoires et contenant une écurie pour les animaux en expérience. Ces animaux sont contenus dans des cages à claire-voie supportées par des traverses de fer au-dessus d'un sol bitumé, avec une pente pour le lavage à grande eau. Aux deux extrémités de l'écurie ont été réservées trois petites salles pour les opérations sur les petits animaux, qu'on viendra traiter, peser ou étudier sur place, sans avoir besoin de les transparter pour cela dans les laboratoires. Au-dessus se trouvent des logements, et un campanile élégant contient une horloge.

Viennent ensuite un chenil (fig. 5) très bien aménagé, pour les chiens en expérience. Chacun a sa cage spéciale, où il peut être tenu propre, surveillé, nourri, sans que celui qui s'en

SERVICES GÉNÉRAUX
Zoologie
Photographie
Salle des cours
Descente de Calorifère
SERVICE DE LA RAGE
Salle d'attente
Personnes traitées
Salle des Moelles
Syncopes
Lavabo
Entrée du service de la rage.
Grande Galerie
Entrée des laboratoires
Calorifère
Groupe en bronze
Promenade des personnes en traitement
Rue

Fig. 3. — Plan général de l'Institut Pasteur.



INSTITUT PASTEUR
Plan Général
Rue des Fourneaux.
Cave à fourrages frais
Hangar
Chenils
Hangar
Remise
ANCIEN BATIMENT CONSERVÉ ET RESTAURÉ
ANCIEN BATIMENT CONSERVÉ ET RESTAURÉ
Bâtiment des Animaux en expériences
Volière
Bâtiment des animaux enragés

occupe entre en contact avec lui. Sur la même figure, au second plan, on voit les portes d'entrée d'une série d'écuries à sol bitumé, destinées à contenir les animaux en réserve, ou éventuellement les animaux en expérience qui exigeraient un isolement spécial. C'est dans une de ces pièces que se trouve l'écurie des lapins enragés, dont nous avons parlé plus haut.



Fig. 4. — Bâtiment des animaux en expérience.

Ajoutons, enfin, pour terminer, un poulailler, une volière et des écuries pour les grands animaux, tout cela construit de façon à pouvoir être non seulement tenu dans un état de propreté parfaite, mais de façon à pouvoir supporter un flambage ou au moins un lavage à l'eau bouillante, et ne présentant nulle part de surface ou de cloisons poreuses dans lesquelles les germes pénètrent et deviennent inaccessibles à tous les moyens de destruction. D'une manière générale, du reste, on s'est préoccupé dans tous les services des moyens d'arriver à une propreté absolue, et d'assurer l'innocuité parfaite, non seulement pour les travailleurs, mais encore pour le voisinage, de toutes les opérations, quelles qu'elles soient, qu'on fait dans ces laboratoires. A cet égard, le

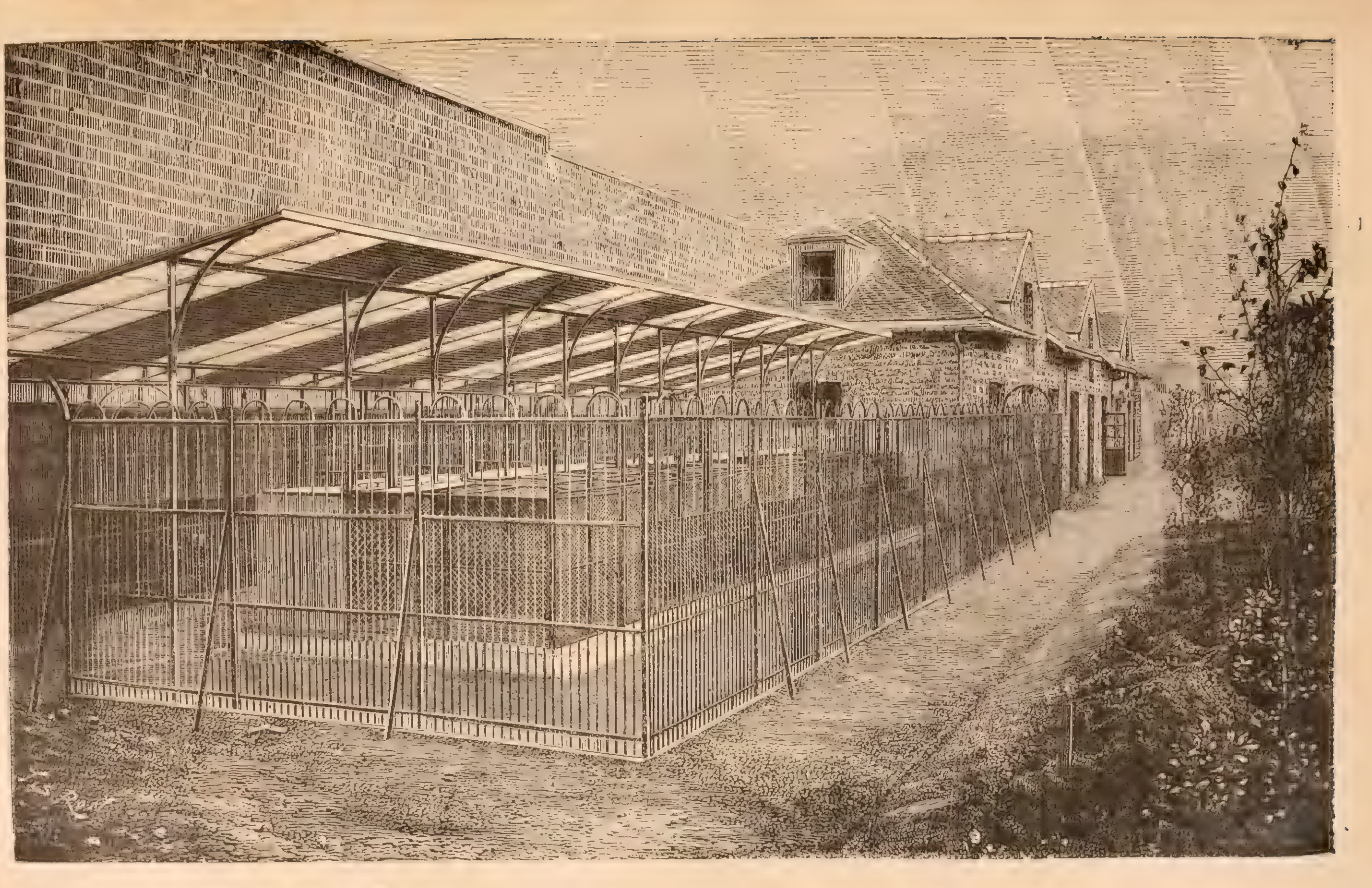


Fig. 4. — Chenil et bâtiment pour les animaux en réserve.

passé répond de l'avenir. Voilà dix ans qu'on fait, tant au laboratoire de M. Pasteur, situé dans les jardins et au contact de l'École normale, que dans la rue Vauquelin, pour ainsi dire sous les fenêtres des hôtels en bordure sur la rue, les manipulations sur les maladies les plus dangereuses, sans qu'ait été soulevé le moindre incident.

Fonctionnement des services. — Ainsi construit et aménagé, l'Institut Pasteur pourra abriter environ une quarantaine de travailleurs, à savoir 14 dans chacun des laboratoires du premier étage, et le reste dans les laboratoires de recherches. En y comprenant les chefs de service et les préparateurs, il y aura donc environ cinquante personnes étudiant des questions de microbiologie. Français et étrangers y seront également admis, dans la limite des possibilités et des places disponibles, mais toutes les personnes admises ne le seront pas au même titre, et il y aura des catégories correspondant à la diversité des laboratoires et des études qu'on y poursuit.

A ce point de vue, l'Institut comprendra six services principaux :

1° Service de la rage, ayant pour chef M. le Prof[r] Grancher;
2° Microbie générale, sous la direction de M. Duclaux;
3° Microbie technique, directeur M. Roux.
4° Microbie appliquée à l'hygiène, directeur M. Chamberland;
5° Microbie morphologique, directeur M. Metchnikoff;
6° Microbie comparée, directeur M. Gamaleïa.

Le service de la rage a pour objectif principal la vaccination après morsure, confiée à tour de rôle à MM. les D[rs] Chantemesse et Charrin, et toutes les études relatives à la rage.

Dans les services de microbie générale et de microbie morphologique, la préoccupation principale, sinon exclusive, sera d'étudier les propriétés de forme et de fonction chez les microbes, de façon à savoir si ces propriétés sont constantes ou peu variables, et peuvent dès lors servir à caractériser des espèces distinctes, ou si elles sont à l'état de mutation continue, et varient entre des limites trop larges pour pouvoir servir à autre chose qu'à établir des groupes généraux.

Les variations de forme sont à consulter, dans l'examen de cette thèse, mais elles ne suffiraient pas à elles seules pour la

résoudre, alors même qu'elles seraient encore plus prononcées qu'elles ne semblent l'être. Il faut encore la variation de propriétés physiologiques; celles-ci sont plus difficiles à constater lorsqu'on entre dans le détail, et exigent en général une étude chimique attentive. C'est ce côté chimique de la question qui sera surtout représenté par le laboratoire de microbie générale, dans lequel seront enseignées toutes les méthodes d'analyse chimique pouvant servir à l'étude des microbes, de leurs besoins alimentaires, de leurs moyens de nutrition, de leurs produits de sécrétion et d'excrétion, etc.

Le laboratoire de microbie appliquée à l'hygiène aura dans son domaine tout ce qui intéresse l'étude hygiénique de l'air, du sol et des eaux, de même que l'étude et la préparation des vaccins.

Jusqu'ici, nous n'avons touché qu'incidemment, dans ce plan d'études communes, à l'action des microbes sur les êtres vivants. Nous y arrivons avec les services de microbie comparée et de microbie technique.

Ces deux laboratoires ont le même objectif, l'étude des maladies microbiennes, mais le premier est surtout un laboratoire de recherches, le second un laboratoire d'enseignement. Cet enseignement aura même ici un caractère particulier. Tandis que dans le laboratoire de microbie générale, les élèves suivront tous pour ainsi dire des voies particulières, chacun ayant son sujet et en poursuivant l'étude par des moyens appropriés, M. Roux recevra, par séries, des élèves auxquels, en cinq ou six semaines, il donnera toutes les notions et indiquera tous les détails de technique nécessaires pour assurer la compétence de ces élèves dans les questions de microbiologie. Cette initiation comprendra un cours régulier et des exercices pratiques au laboratoire. Une ois le cours terminé, les élèves feront place à d'autres, et ainsi de suite ; cette périod de cours durera de cinq à six mois, et comprendra par conséquent quatre ou cinq séries d'élèves. Quand elle sera terminée, le laboratoire reprendra son caractère de laboratoire de recherches, et admettra des élèves sans limite de période de séjour, et dans les mêmes conditions que dans les autres laboratoires.

L'admission et le séjour dans les divers laboratoires ne seront naturellement pas gratuits. Celui de M. Duclaux seul,

à raison de ses origines et de la source de ses crédits, est astreint à rester un laboratoire ouvert. Mais on payera dans les autres. La longue expérience des Allemands sur ce sujet, l'expérience plus courte d'un grand nombre de laboratoires français, montrent que les étudiants profitent mieux de ce qu'ils payent. Il y aura donc un droit d'admission, payé une fois pour toutes, pour le cours de M. Roux et les leçons pratiques qui l'accompagnent. Pour les autres laboratoires, et pour celui de M. Roux quand la période des cours y sera terminée, il y aura un droit mensuel pour l'entrée au laboratoire et le libre usage de l'eau, du gaz, des réactifs principaux et de la verrerie usuelle. Ce droit sera minime, de façon à ne pas être un obstacle au travail. Les animaux d'expérience seront de même fournis à un tarif réduit d'environ 50 % sur le prix des marchés, de façon, d'un côté, à ne pas arrêter les travailleurs dans leurs expériences utiles, de l'autre à éviter les tentatives inconsidérées et le gaspillage d'animaux auquel on se trouve entraîné quand c'est l'*État qui paye*. Ici, ce ne sera pas l'État, c'est une société créée avec les capitaux de tous, dans l'intérêt de tous, et qui a le devoir étroit d'assurer la bonne gestion et l'emploi utile des capitaux qui lui ont été confiés. Elle ne songe pas à faire de bénéfices. Elle a seulement la légitime ambition de ne pas dépenser au delà de ses revenus.

Le conseil de l'Institut se réserve, d'ailleurs, le droit d'accorder la gratuité absolue aux travailleurs qu'il en jugerait dignes. Il est clair, du reste, qu'il y a des cas où elle s'impose, et qu'il y a tels ou tels savants auxquels on serait trop heureux, s'ils venaient travailler à l'Institut, de donner tout ce qui leur serait nécessaire. Les élèves qui le peuvent doivent payer, mais cette règle ne s'applique pas aux maîtres, et l'Institut restera débiteur de ceux qui viendront y faire une découverte profitable à tous.

ACTION DU VIRUS RABIQUE

INTRODUIT, SOIT DANS LE TISSU CELLULAIRE SOUS-CUTANÉ, SOIT DANS LES AUTRES TISSUS,

Par M. C. HELMAN [1].

Dans une lettre sur la rage adressée à M. Duclaux et publiée dans le premier numéro des *Annales de l'Institut Pasteur*, M. Pasteur a fait part d'une série d'expériences, au cours desquelles des chiens inoculés sous la peau avec de la moelle rabique fraîche arrivaient à l'immunité, et cela d'autant plus sûrement que la quantité injectée était plus grande. M. Pasteur explique ce fait par l'existence d'une matière vaccinale introduite en même temps que les microbes de la rage, et qui parvient dans le système nerveux plus tôt que les microbes eux-mêmes.

Si donc on injecte une grande quantité de moelle, il y aura assez de matière vaccinale pour produire l'immunité; sinon, il n'y aura pas assez de vaccin soluble, et alors commencera le développement des microbes, suivi de rage à issue mortelle.

Si cependant on n'injecte que de petites doses égales du même virus, la maladie ne se montre que très irrégulièrement. Ce fait est-il en relation avec la matière vaccinale, ou provient-il d'une autre cause encore inconnue? Le but de ce mémoire est de rechercher les causes de l'absence de l'infection, qui assez souvent ne se produit pas dans les cas d'injection sous-cutanée, ainsi que d'étudier plus complètement l'action que produit le virus rabique introduit dans les tissus musculaires.

I. — *Expériences sur les chiens.*

Chez les chiens, l'injection sous-cutanée fut faite dans le pli de la peau soulevée, l'aiguille étant maintenue fortement

1. Travail de l'Institut antirabique à Saint-Pétersbourg.

avec les doigs de la main gauche, de façon à l'empêcher de changer de direction par suite des mouvements de l'animal.

Au commencement de l'année 1886, 6 chiens reçurent de cette façon, dans l'intervalle d'un mois et plus, des doses de moelles délayées de diverses virulences et variant de 20 à 60 centimètres cubes. Ils restèrent bien portants pendant plusieurs mois, et aucun d'eux ne prit la rage à la suite de l'inoculation sous-cutanée.

Quelle est la raison de ce fait? La quantité de virus employée était cependant assez grande; on s'était servi de trois sortes de virus (virus de passage ordinaire, virus de passage de forme furieuse, et virus de rage des rues); et les injections avaient été faites presque toutes à la tête. La raison doit-elle en être cherchée dans l'organisme du chien? Car presque tous les lapins soumis à une injection sous-cutanée tombent malades. Quelle différence anatomique existe-t-il entre le chien et le lapin? Les chiens ont entre la peau et les muscles un assez riche réseau de tissu qui, chez les animaux bien nourris, est assez gras; chez les lapins, les tissus sont généralement extrêmement tendus et manquent de graisse. Chez les chiens, l'injection est donc réellement faite dans le tissu cellulaire sous-cutané; chez les lapins, au contraire, les muscles sont ordinairement soulevés avec le pli de la peau et le virus injecté sous ces muscles, de sorte que ceux-ci sont chaque fois endommagés; de plus, les tissus très délicats du lapin sont facilement lésés et déchirés par le liquide injecté.

On était donc conduit, par ces considérations, à essayer chez les chiens l'effet d'injections intramusculaires. Pour cela, la peau ne fut pas soulevée : l'aiguille fut enfoncée profondément afin de pénétrer dans les muscles et tournée dans plusieurs directions durant l'injection, afin que le virus ne pût rester entre deux fibres musculaires. Dans certains cas même, on fit avant l'inoculation une incision jusque dans la musculature.

7 chiens furent inoculés de cette façon, en 1887, par injections intramusculaires. Ils reçurent chacun des quantités de virus frais variant entre un et demi et 8 centimètres cubes. 6 de ces chiens moururent après une courte période d'incubation et en présentant tous les symptômes de la rage.

Il y a donc une différence remarquable entre les inoculations par injection sous-cutanée et par injection intra-musculaire.

Les animaux d'expérience inoculés dans le tissu sous-cutané avaient, en général, reçu une plus grande dose de virus que ceux inoculés par injection intramusculaire; avaient-ils acquis ainsi l'immunité? Afin de résoudre cette question, je fis alors sur les chiens les expériences suivantes :

1° *Injections sous-cutanées de virus frais à forte dose.* — Au mois d'août 1887, 4 chiens, mordus la veille par un chien enragé, furent inoculés avec du virus fixe frais (3 centimètres cubes); les jours suivants, on recommença l'opération. A des intervalles de 2 à 4 jours, ils reçurent chacun 30 centimètres cubes de virus fixe.

3 de ces animaux furent ensuite trépanés avec le virus de la rage des rues. Aucun d'eux ne prit la rage.

D'autres expériences analogues, faites en grand nombre, démontrent que la moelle fraîche des lapins de passage, employée en grande quantité, confère l'immunité aux chiens; et cette immunité est d'autant plus solide que la quantité de virus injectée a été plus grande.

2° *Injections sous-cutanées de virus frais à petite dose.* — A la fin de l'année 1887, 10 chiens furent inoculés à l'abdomen, les 6 premiers avec du virus fixe, les 4 autres avec le bulbe de chiens morts de rage des rues. Ils reçurent chacun 1 ou 2 centimètres cubes de virus. Un seul de ces animaux prit la rage.

Comme l'inoculation avait eu lieu sans les mesures de précautions employées plus tard, on peut admettre que cet unique cas tient à l'absence de ces précautions. La conclusion est donc que, si le virus employé en petite quantité ne donne pas l'immunité, il ne cause pas non plus la rage.

Ainsi, les chiens adultes prennent difficilement la rage par injections sous-cutanées. Nous allons voir, au contraire, que les chiens jeunes et maigres, dont les tissus sont moins gras et presque aussi tendres que ceux des lapins, la prennent facilement dans les mêmes conditions.

2 chiens d'un mois reçurent respectivement 3 et 6 centimètres cubes de virus fixe sous la peau. Ils prirent la rage le huitième et le neuvième jour.

2 autres chiens, âgés de 3 mois, furent inoculés sous la peau avec le bulbe d'un chien mort de la rage des rues; ils reçurent

chacun un centimètre cube de virus et furent pris de rage 21 et 39 jours après l'inoculation.

Comme les petites doses de virus introduites dans le tissu cellulaire ne confèrent que très rarement l'immunité, on peut penser que le virus rabique ne se multiplie pas dans ces conditions d'infection. Cependant, de petites quantités de virus frais, comme l'a démontré M. Pasteur et comme l'a confirmé M. Bardach, peuvent aussi produire l'immunité, mais chez quelques sujets seulement et en cas d'infection légère. Si dans les injections sous-cutanées le virus se multipliait, l'immunité dépendrait moins de la quantité que de la virulence de la matière d'inoculation.

II. — *Expériences sur les singes.*

8 singes reçurent chacun sous la peau un centimètre cube de virus fixe, séché pendant un jour à l'étuve à 24°. Le lendemain, ils reçurent chacun un centimètre cube de virus fixe frais. Aucun de ces animaux ne tomba malade.

La non-apparition de la maladie n'était pas causée par l'atténuation du virus dans l'organisme du singe; car des singes trépanés prenaient la rage au bout de 8 ou 9 jours, et les lapins inoculés avec leur bulbe étaient pris de rage le septième jour.

La virulence n'est donc pas sensiblement atténuée par un seul passage par l'organisme du singe. Il s'ensuit que l'injection sous-cutanée devrait provoquer la rage si seulement le virus se localisait et commençait à se développer. Ce n'est donc principalement que l'impossibilité du développement dans le tissu sous-cutané, et peut-être dans une certaine limite l'affaiblissement du virus, qui occasionnent l'absence de la rage.

Il est difficile d'admettre que les 8 singes aient acquis l'immunité par l'inoculation d'un centimètre cube de moelle d'un jour.

III. — *Expériences sur les lapins.*

Les lapins sont bien plus sensibles que les chiens aux inoculations sous-cutanées de virus rabique. Les inoculations préventives ne les empêchent pas généralement de mourir de rage, tandis qu'aucun chien soumis à des inoculations préven-

tives n'est tombé malade à la suite de cette opération. La raison de ce fait réside principalement, ainsi qu'il a été dit plus haut, dans la structure anatomique des tissus de ces deux espèces d'animaux. La délicatesse du tissu cellulaire du lapin et la forte adhérence à la peau du muscle cutané, qui manque chez l'homme, augmentent beaucoup la difficulté que l'on éprouve à faire aux lapins une injection sous-cutanée parfaite.

En soulevant la peau seule avec soin, et en faisant l'inoculation dans le pli même ainsi formé, en général on lèse, on déchire les tissus qui se trouvent sous cette peau. Ces particularités anatomiques expliquent les fluctuations fréquemment observées dans la période d'incubation qui précède l'apparition de la rage, après une injection dite sous-cutanée.

En introduisant l'aiguille de la seringue dans le pli de la peau soulevée, jusqu'à ce qu'elle s'y déplace librement, et en inoculant 4/10 de centimètre cube de bulbe rabique délayé, le nombre des lapins prenant la rage est de 75 pour 100. Si l'on injecte la même quantité de virus en piquant l'aiguille dans les muscles, la proportion monte à 85 pour 100. Si enfin, après avoir fait une incision à la peau, on coupe dans un muscle une partie des fibres, et si l'on fait l'injection dans la partie incisée du muscle, tous les lapins tombent infailliblement malades, après une courte incubation. Une grande différence se manifeste donc dans les résultats, suivant le mode d'inoculation.

Il y avait lieu de se demander si, en ménageant autant que possible les autres tissus et en introduisant dans le tissu sous-cutané une dose suffisante de matière virulente, le pourcentage de la maladie diminuerait; ce qui prouverait évidemment que l'introduction et le séjour du virus dans le tissu cellulaire sous-cutané empêche le développement de la maladie. Mais, pour isoler autant que possible la matière virulente dans le tissu sous-cutané, et éviter la lésion des tissus délicats par suite de l'injection, il était nécessaire de n'introduire que de petites quantités de virus : 2/10 de centimètre cube, par exemple. Dans ce cas, 50 pour 100 des lapins tombèrent encore malades.

Après de nombreux essais, il me sembla que la mobilité de la peau était un obstacle à la réussite des expériences, et, pour éviter cette mobilité, je fis l'injection entre les deux yeux, là où le tissu sous-cutané est le moins tendre, et où la mobilité de la peau



est la moins grande chez le lapin, le muscle cutané n'existant pas sur cette région.

Après avoir rasé la peau à l'endroit où l'inoculation devait être faite, et l'avoir lavée avec une solution de sublimé au 2/1000, on la piquait avec une aiguille très fine, préalablement nettoyée et flambée à la flamme d'une lampe à alcool. L'aiguille était maintenue pendant l'injection, et à la sortie, à l'aide des deux doigts de la main gauche; on pressait ensuite légèrement la piqûre pour s'opposer à la sortie de la substance injectée; on la lavait une dernière fois avec le sublimé.

Dans une série d'expériences, 30 lapins ont été ainsi inoculés entre les yeux avec 2 à 4 dixièmes de centimètre cube de virus de passage. 3 d'entre eux seulement prirent la rage.

10 lapins ont été inoculés de la même façon avec du virus frais de passage de la forme furieuse. Aucun d'eux n'est tombé malade.

Par contre, 10 autres lapins ont été inoculés en même quantité, au moyen d'une piqûre à la tête dans le temporal et le masséter. 7 de ces lapins sont morts de la rage.

Le minime pourcentage de la maladie (10 pour 100 environ) dans le cas de l'inoculation entre les yeux, doit être attribué à des lésions accidentelles dues, soit à un brusque mouvement de la tête de l'animal, auquel cas l'aiguille pénètre jusqu'au périoste, soit à ce que l'aiguille s'enfonce dans la peau du pli opposé, soit enfin à un choix malheureux du point d'inoculation. De plus, si l'on tient compte de la petite surface que le lapin présente entre les yeux, la quantité de 3 ou 4 dixièmes de centimètre cube est peut-être un peu forte et distend les tissus. Si l'on n'injectait que 1/10 de centimètre cube, le pourcentage serait certainement moindre; mais la période d'incubation serait beaucoup augmentée, et par conséquent aussi la durée des observations à faire sur les lapins.

Il serait impossible d'objecter que si la maladie ne se manifeste pas, c'est que, comme pour les chiens, l'immunité aurait été atteinte : de fortes doses, même de virus frais de rage des rues, ne donnent pas l'immunité. Des lapins ayant reçu jusqu'à 10 centimètres cubes de virus frais d'un seul coup sont tombés malades le 14e ou le 16e jour. L'injection sous-cutanée chez le lapin équivaut presque à une injection intramusculaire chez le

chien. Quoiqu'en même temps que le virus frais, on introduise une quantité de matière vaccinale suffisante pour produire l'immunité, l'infection commence toujours au point d'inoculation, parce que le virus se localise immédiatement, et que la culture commencée dans la périphérie nerveuse ne peut plus être empêchée dans le système nerveux par le procès de l'immunité.

En résumé, le virus rabique, introduit uniquement dans le tissu cellulaire sous-cutané, ne produit pas la rage, et s'il est injecté en quantité suffisante, il confère l'immunité.

Mais on peut aller plus loin, et prouver que non seulement il ne se multiplie pas en dehors du système nerveux; mais qu'il meurt lorsqu'il est retenu un certain temps dans les autres tissus : c'est ce qui résulte des expériences suivantes :

1° 5 lapins ont reçu dans le péritoine 8/10 de centimètre cube de virus fixe; 3 lapins ont reçu également 8/10 de centimètre cube de virus frais de rage des rues : aucun de ces animaux n'est tombé malade. Pour amener la rage, il eût fallu que le virus pût se propager par les lymphatiques, ou par les cellules de la séreuse du péritoine.

2° Je n'ai jamais constaté chez les chiens la présence du virus rabique, ni dans la substance des glandes lymphatiques, ni dans le contenu de ces glandes, ce qui aurait dû arriver si le virus cheminait à travers la lymphe pour pénétrer dans le sang.

3° Le sang, recueilli pendant la vie ou aussitôt après la mort de chiens ou de lapins rabiques, n'a jamais donné la rage. De plus, une injection intraveineuse de virus frais, pratiquée sur des chiens adultes, est souvent restée infructueuse. Contrairement aux résultats énoncés par Hertwig, par Frisch, par de Renzi et Amoroso, par Bareggi et Cassanello [1], et conformé-

1. Hertwig a inoculé le sang d'un animal enragé à un caniche en lui faisant des incisions au cou. Ce caniche a pris la rage un mois après; mais trois mois auparavant, il avait été inoculé avec la bave d'un chien enragé

Frisch a inoculé, par trépanation, deux lapins avec du sang. L'un d'eux a pris la rage au bout de 15 jours. Mais pourquoi toute autre cause de mort serait-elle écartée? Les inoculations de contrôle en effet n'ont pas été faites.

De Renzi et Amoroso ont inoculé deux lapins avec le sang d'un chien; l'un est mort en 3 heures, et l'autre 11 jours après. Cela montrerait assez que le sang n'était pas pur et qu'on n'avait pas affaire à la rage.

Bareggi et Cassanello ont trouvé dans le sang d'animaux rabiques un microbe

ment aux expériences de M. Pasteur, de Roux, de Bujwid, il n'y a donc pas de culture de virus rabique dans le sang. Le virus y meurt même s'il n'en sort rapidement.

Quant à la fonction du sang, lors des injections intraveineuses, M. Pasteur a montré par une injection dans une veine de l'oreille, amputée ensuite avec le point d'inoculation, que l'infection peut ne pas commencer à l'endroit inoculé, mais que le virus peut être charrié par le sang et déposé ainsi dans le système nerveux. Seulement, on doit se demander si, lors d'une infection naturelle par morsure ou par injection sous-cutanée, le virus peut en général arriver directement jusqu'au sang en quantité suffisante. M. Pasteur a démontré expérimentalement que les quantités minimes introduites par injections intraveineuses ne provoquent pas la rage. Pour qu'il y ait développement de la maladie après injection intraveineuse, il faut donc que le virus sorte du sang et se localise dans les centres nerveux. De là le rôle considérable que joue la structure des parois des vaisseaux : les petits animaux à tissus et parois capillaires délicats, tels que les lapins et les jeunes chiens, tombent tous malades sans exception après une injection intraveineuse ; les grands chiens donnent des résultats fort irréguliers ; quant aux chèvres, aux moutons et aux vaches, ils semblent plus résistants encore, ainsi qu'il résulte des expériences de Galtier, de Roux et de Nocard. Cela doit résulter de la structure de leurs vaisseaux capillaires, qui chez les uns s'opposent au passage du virus dans les centres nerveux, tandis qu'ils le permettent chez les autres.

D'un autre côté, j'ai observé qu'après infection par trépanation, si l'on n'introduit une très petite dose de virus que sous la dure-mère, avec précaution et sans blesser la pie-mère, l'apparition de la maladie peut être reculée de plusieurs mois, et même en quelques cas à tout jamais empêchée ; ce qui ne pourrait être si le virus pouvait se cultiver dans l'espace arachnoïdal. Il doit tout d'abord arriver au tissu nerveux et, à ce qu'il semble, il se

donnant une culture sur la pomme de terre. Il y a lieu de penser que le sang dont ils se servaient était infecté et ne pouvait amener la rage des chiens, mais tout au plus la rage que Protopopoff et Motte, à Kharhoff, ont confondue avec la véritable.

localise plus vite dans la moelle épinière : il faut donc qu'il puisse l'atteindre facilement par la lymphe.

Il est probable que le virus, tout en se multipliant, se dirige vers le centre au moyen des fibres nerveuses, comme un conducteur de chemin de fer passe d'un wagon à un autre pendant la marche du train, ainsi que tendent à le prouver les expériences de Vestea et Zagari, de Zagari seul, de Roux, et les miennes propres, faites sur la queue des chiens et des lapins. Si en effet, dans les 12 heures qui suivent l'injection, j'amputais la queue avec le point d'inoculation, les animaux restaient indemnes.

Comment le poison se meut-il si lentement ? Ce n'est possible que parce qu'il se propage par les fibres nerveuses ou au moins le long de ces fibres, c'est-à-dire dans le courant lymphatique qui entoure la fibre nerveuse. Le résultat des injections pratiquées dans la peau (intracutanées), qui à petites doses donnent toujours la rage, parle en faveur de cette supposition.

En résumé on peut formuler, dans les propositions suivantes, et les résultats obtenus et les conséquences de ces résultats :

1° Le virus rabique ne peut se cultiver que dans la substance nerveuse.

2° Il ne produit l'infection que lorsque, par inoculation, il est introduit directement dans les cellules nerveuses, ou lorsque les autres tissus ne l'empêchent pas d'y pénétrer.

3° Introduit et localisé dans le tissu sous-cutané, il ne produit pas l'infection.

4° Retenu dans le tissu cellulaire, il peut donner l'immunité.

5° Le degré d'immunité est en raison directe de la quantité de virus frais introduite.

6° La pie-mère et les parois capillaires des petits animaux laissent passer le virus par les *stomata*.

7° L'infection ne dépend pas de l'endroit du corps où l'injection a été faite, mais du genre de tissu atteint par le virus.

8° La localisation dans le tissu sous-cutané dépend de la structure anatomique du sujet d'expérience, et de la façon dont on s'y prend pour faire l'injection.

9° Pour les inoculations préventives de moelle virulente, les injections doivent être strictement faites dans le tissu cellulaire sous-cutané.

10° Les fortes doses de virus virulent qui, introduites dans le tissu cellulaire, produisent l'immunité, font très souvent naître la rage si on les injecte dans les muscles.

11° Les inoculations préventives du virus virulent, pratiquées sur l'homme, sont bien moins dangereuses que sur les animaux ; car l'homme, à l'endroit où l'inoculation est faite, n'a point de muscle cutané.

12° L'injection sous-cutanée n'est point la même chose que l'injection dans le tissu cellulaire sous-cutané ; car, dans la première, on ne se préoccupe pas de l'endroit que le virus peut atteindre.

RECHERCHES SUR LA DIGESTION INTRACELLULAIRE

Par El. METCHNIKOFF.

Comme la plupart des Protozoaires et des cellules-phagocytes, aptes à la digestion intracellulaire, se prêtent fort peu à la recherche des phénomènes digestifs, à cause de leurs petites dimensions, c'est à la tribu des Myxomycètes que je me suis adressé au début de mes études sur cette question. Les plasmodiums de ces curieux organismes se présentent souvent sous forme de masses protoplasmatiques énormes, et peuvent être facilement soumis à la recherche microscopique directe, aussi bien qu'à l'expérience de chimie physiologique.

Depuis les recherches classiques de *de Bary*, il est généralement admis que la plupart des Myxomycètes sont capables, dans leur état de plasmodium, de s'incorporer différentes substances solides, telles que les grains de carmin, spores de champignons, etc. L'éminent botaniste put constater en même temps que plusieurs de ces corps englobés subissent un certain changement dans l'intérieur du plasmodium, par exemple les grains de carmin, qui chez le *Didymium* présentaient des signes évidents de dissolution [1]. Comme le protoplasma et le suc du plasmodium présentent une réaction alcaline bien prononcée, ce changement du carmin pouvait être expliqué par une simple action dissolvante des parties alcalines, et on pouvait supposer de même que la vraie digestion qui s'opère dans l'intérieur du plasmodium s'accomplit également dans un milieu alcalin.

Les recherches de M. *Krukenberg* [2], entreprises pour répondre à cette question, ont donné cependant un résultat purement négatif, en ce sens qu'il ne lui fut jamais possible de trouver chez les Myxomycètes une digestion des matières albuminoïdes.

1. De Bary, *Pilze, Mycetozoen u. Bacterien*, 1884, p. 487.
2. *Untersuchungen aus dem physiologischen Institute in Heidelberg*, 1878, II, p. 273.

comparable à celle qui s'opère par la trypsine. L'extrait du plasmodium d'*Æthalium septicum*, qui laissait la fibrine intacte dans un milieu neutre ou alcalin, la digérait toujours lorsque M. *Krukenberg* ajoutait de l'acide chlorhydrique ou lactique.

La présence de pepsine, démontrée par ces expériences, fut bientôt confirmée par MM. *Reinke*[1] et *Grenwood*[2]. Mais ces observateurs, admettant que la pepsine du plasmodium ne pouvait pas manifester son action digestive dans un milieu franchement alcalin, attribuent sa présence à une sorte de production de luxe, et la considèrent comme absolument inutile à l'économie des Myxomycètes.

S'il n'est rien de plus facile que de s'assurer de la faculté qu'a le plasmodium des différents Myxomycètes d'envelopper les corps solides les plus variés, il est au contraire excessivement difficile de prouver une action digestive exercée sur ces corps englobés. Les mouvements perpétuels du protoplasma rendent impossible la fixation, pour un temps un peu long, d'un objet ingéré, afin d'observer sa dissolution plus ou moins lente dans le plasmodium. Souvent aussi ce dernier se débarrasse des corps enveloppés, en les rejetant presque tous en dehors du protoplasma. Des granulations vitellines, des morceaux de fibres musculaires, même des corps aussi tendres que les globules rouges du sang humain, subissent le même sort; de sorte qu'il m'a été impossible de démontrer leur digestion par le contenu du plasmodium. Pour obtenir des résultats précis, je me suis adressé à l'observation des phénomènes qui s'opèrent dans le plasmodium du *Physarum*, après l'injection des cellules du *Sclerotium* rouge, connu sous le nom de *Phlebeomorpha rufa*. Après avoir réduit des morceaux de ce Sclerotium en poudre, on ajoute des cellules ainsi isolées au plasmodium fixé sur un porte-objet, et on laisse le tout pendant plusieurs heures dans la chambre humide. Après un temps variable, on aperçoit tous les stades de dissolution des cellules du *Sclerotium*, qui changent leur couleur orangeâtre en jaune, et finissent par devenir tout à fait incolores. Les contours, très nets au début, deviennent de plus en plus diffus, de sorte qu'on éprouve une

1. *Untersuch. aus d. botanischen Institute in Gottingen*, 1881.
2. *Journal of Physiology*, vol. VII, 1886, p. 254.

difficulté à reconnaître encore les cellules à demi digérées. Comme il est bien établi par les recherches de *de Bary* que le protoplasma des différentes espèces de Myxomycètes ne se fusionne jamais, il est évident que la dissolution des cellules de *Phlebeomorpha*, dans le plasmodium, ne peut être considérée que comme un acte de digestion intracellulaire des corps albuminoïdes.

Plusieurs auteurs, qui ont étudié la question de la digestion chez les organismes inférieurs, sont disposés à admettre une influence digestive par le contact direct du protoplasma, sans l'intervention d'aucune action de diastases. Peut-être voudront-ils voir le même phénomène dans le plasmodium des Myxomycètes, vu l'absence complète de trypsine, et l'inefficacité admise de la pepsine chez ces organismes. Mes expériences prouvent précisément le contraire. Après avoir ajouté sur les porte-objets qui contenaient des plasmodiums d'espèces différentes (*Didymium farinaceum*, *Spumaria alba*, *Phlebeomorpha rufa*, etc.) de la poudre de tournesol bleu, je pouvais me convaincre facilement que les granules de cette substance, non seulement étaient englobés par le protoplasma, mais encore qu'au bout d'un certain temps ils prenaient une couleur rose très prononcée. Pour s'assurer que les nombreux corpuscules roses n'étaient autre chose que le tournesol ingéré, il suffisait d'ajouter une goute d'alcali volatil, ou bien de produire une pression avec la lamelle de verre sur le plasmodium. Sous l'influence de l'alcali ajouté (dans le premier cas) ou des parties environnantes du plasmodium (dans le second), les granules reprenaient aussitôt leur coloration bleue primitive. Beaucoup de ces granules étaient contenus dans des vacuoles plus ou moins grandes, remplies d'un liquide clair de couleur rougeâtre ; d'autres paraissaient entourés directement par le protoplasma.

Il ressort de ces observations que le plasmodium des Myxomycètes, bien qu'étant franchement alcalin, est néanmoins apte à sécréter un suc acide, afin de former un milieu nécessaire pour la digestion des corps albumineux à l'aide de la pepsine. Comme preuve indirecte du fait que cette diastase n'apparaît point dans le plasmodium comme un corps de luxe et sans fonction, je pourrais citer l'observation suivante. Avant de former ses sporanges, le plasmodium cesse de prendre des corps

étrangers, et rejette ceux qui étaient englobés auparavant. Pendant cet arrêt dans la fonction digestive, la production de la pepsine cesse complètement, ainsi que j'ai pu m'en convaincre sur la *Spumaria*.

Certains faits, notés par des observations antérieures, permettent de croire que la digestion en milieu acide n'est point bornée aux Myxomycètes, parmi les organismes inférieurs. Ainsi *Engelmann* [1] a vu que chez quelques infusoires (*Stylonychia*, *Paramecium aurelia*), et une amibe (*Amoeba diffluens*), les grains englobés de tournesol bleu prenaient, au bout de peu de minutes, une coloration rouge. Quoique l'auteur cite ce fait comme preuve de la réaction acide du protoplasma lui-même, il me semble certain qu'il s'agit ici, ainsi que chez les Myxomycètes, d'une acidité non du protoplasma, mais des vacuoles nutritives. J'ai pu me convaincre facilement que le protoplasma des *Stylonychia* est alcalin, tandis que le contenu des vacuoles nutritrives donne (avec une solution de tournesol bleu) une réaction acide prononcée. La *Vorticella convallaria*, infusoire qui se nourrit principalement de bactéries, présente les mêmes phénomènes : les petites zooglœa, après avoir été avalées par des vorticelles, changent bientôt leur réaction alcaline en réaction acide. Tout récemment, M. *Le Dantec*, qui s'occupe actuellement de la digestion des Protozoaires, a constaté que les vacuoles nutritives chez le *Stentor polymorphus* ont une réaction acide très prononcée.

Il ne faut pas croire cependant que les organismes inférieurs ne soient capables de digérer les substances albumineuses que dans un milieu acide; M. *Greenwood* [2] a prouvé que l'*Amoeba Proteus* et l'*Actinosphærium Eichhoornii* produisaient un suc nutritif toujours neutre : conclusion que je puis confirmer également pour la *Noctiluca miliaris*. Les vacuoles nutritives de l'*Euplotes* ne m'ont jamais donné non plus qu'une réaction neutre : ce qui paraît d'autant plus étrange que cet infusoire est très voisin de la *Stylonychia* mentionnée plus haut.

Après m'être assuré que la digestion des organismes inférieurs est en principe une digestion diastasique qui s'opère

1. *Flimmer und Protoplasmabewegung*, dans Hermann. *Handbuch der Physiologie*, vol. I, 1879, p. 349.

2. *Journal of Physiology*, vol. VIII, 1887, p. 263.

souvent dans un milieu acide, j'ai voulu examiner la question de la digestion intracellulaire des phagocytes d'animaux supérieurs. Quoique cette étude soit encore loin d'être terminée, elle m'a montré déjà l'existence de faits analogues à ceux qui ont été signalés pour les Protozoaires. Ainsi, après avoir coupé le bout de la queue des larves de *Triton tæniatus*, et frotté la plaie avec une poudre de tournesol bleu, j'ai pu constater que les leucocytes uninucléaires immigrés changeaient en partie les grains de tournesol englobés en rouge clair. Dans quelques-uns de ces macrophages, il se trouvait, à côté d'un grain rouge de tournesol une vacuole remplie des granules bleus de la même substance ; ce qui prouve que la production du suc acide intracellulaire peut se localiser dans une partie restreinte de la cellule. Dans une publication faite en 1874, M. *Roustizky* [1] a signalé que les ostoclastes, ces cellules géantes qui servent à la résorption des os, lui donnaient une réaction acide du contenu. Il y a donc des cas où la digestion intracellulaire chez les phagocytes s'opère aussi dans un milieu acide, quoique dans un bon nombre d'autres cas on ne voie apparaître aucune réaction.

1. *Archives de Virchow.*

REVUES ET ANALYSES

SUR LES PROCÉDÉS DE CONSERVATION DU LAIT

REVUE CRITIQUE.

W. Fleischmann. L'appareil de pasteurisation de Thiel. *Mitchzeitung* 1884. — Van Geuns. Sur l'action de la pasteurisation sur le lait. *Archiv. f. Hygiene* 1885. — E. de Freudenreich. Note sur les essais de stérilisation du lait dans l'alimentation de l'enfant. *Annales de micrographie*, t. I, 1888.

J'espère ne soulever aucune contradiction en disant, en tête de cet article, que le lait est un aliment de premier ordre. S'il s'en soulevait, je déclare que je serais fort embarrassé d'y répondre autrement qu'en invoquant l'opinion commune et l'expérience journalière. Je n'ignore pas qu'il y a des méthodes, prétendues scientifiques, de déterminer la valeur alimentaire des diverses substances, ce qu'on appelle leurs *coefficients de digestibilité*. Ces méthodes consistent à peser la substance ingérée, et à aller chercher dans les excréments de l'animal qui l'a mangée la portion qui est restée inutilisée, et qui a conservé à la sortie du canal digestif les caractères physiques ou chimiques qui peuvent permettre de la reconnaître. La comparaison des poids à l'entrée et à la sortie donne le coefficient d'utilisation. Ces méthodes ne peuvent, quel que soit le soin qui préside à leur emploi, que donner des indications grossières, servir par exemple à distinguer le foin jeune du foin vieux, celui d'une bonne prairie de celui d'une prairie marécageuse; mais on ne saurait leur demander un classement des diverses substances alimentaires.

Entre autres défauts, elles ont celui de reposer sur deux hypothèses tout à fait inexactes. La première est que la digestion d'un individu ressemble à celle d'un autre individu de la même espèce, c'est-à-dire qu'il y a une digestion normale ou physiologique. Il n'est pas bien sûr que cela serait vrai en l'absence des microbes du canal digestif; il est sûr que cela est inexact en présence de la digestion microbienne superposée à la digestion produite par les liquides de l'organisme. Il est non moins sûr que cette double digestion ne se fait pas toujours de même dans le même individu, qu'il y a par exemple des phénomènes d'habitude, d'accoutumance à un certain aliment. Je tiens d'un de nos officiers les plus distingués de l'armée d'Afrique, qu'un jour, un piquet de cavalerie, perdu en plein désert et privé de fourrages, se vit

sans autres ressources qu'un lot considérable de chapeaux de paille. Le besoin les fit donner aux chevaux, qui n'acceptèrent d'abord qu'en protestant cette nourriture inaccoutumée, mais finirent par s'en accommoder tant qu'elle dura.

La seconde hypothèse est qu'un aliment parfait ne doit pas se retrouver dans les fèces, et c'est ici que nous revenons au lait. Il est clair que, dans cette hypothèse, les enfants qui s'en nourrissent et restent bien portants ne devraient plus ou quasi plus salir leurs langes. C'est un privilège qui jusqu'ici a été réservé aux dieux immortels. En réalité, dans les selles d'enfants bien portants, on trouve, dans les matériaux insolubles dans l'alcool, des matières ayant si bien les propriétés des peptones et même celles de la caséine, qu'il est fort difficile de les distinguer. Si on s'adresse à des substances faciles à reconnaître à leur structure microscopique, telles que de la chair musculaire, on constate, surtout chez les personnes mangeant trop ou mâchant mal, qu'il y a dans les excréments des quantités considérables de faisceaux musculaires à peine atteints, ou encore reconnaissables à des débris de striation. De même Cl. Bernard a figuré et signalé des cellules encore remplies d'amidon à l'extrémité du canal digestif des oiseaux granivores.

Il faut donc, comme je le disais en commençant, accepter, comme fondée sur l'expérience de tous, la bonne opinion qu'on a du lait comme substance alimentaire. J'ajoute en passant, car de nombreuses conversations sur des questions laitières m'ont prouvé que cette notion est peu répandue, que le lait est en outre, envisagé seulement comme source d'azote, le plus économique des aliments. Voici, en effet, le prix auquel revient le kilogramme d'azote emprunté à diverses substances alimentaires, d'après le cours des Halles au 1er janvier 1889, et les tableaux de Payen sur la composition des divers aliments ; il est inutile d'indiquer avec plus de détail les bases du calcul, parce que ce qui nous intéresse, c'est la valeur proportionnelle des divers aliments, qu'on trouvera dans la 3e colonne du tableau.

	Prix du kil. d'azote, en francs.	Valeur proportionnelle.
Lait	40	1
Fromage de gruyère	30	0,75
— du cantal	27	0,66
— de brie	80	2,0
Chair de bœuf	110	2,7
— mouton	100	2,5
— porc	90	2,2
Œufs	150	3,8
Bouillon	200	5,0

Tous ces avantages donnent au lait, dans l'alimentation, une place qui ne pourrait que s'agrandir, au double bénéfice du producteur et du consommateur, si le maniement du lait était chose plus facile, et si, entre le moment de la traite et celui où il arrive à destination, il n'y avait pas place pour une foule d'éventualités qui gênent et paralysent en partie le commerce de cette denrée.

Je laisse de côté, dans cette étude, pour y revenir bientôt, le rôle du lait comme agent de transport de certaines maladies contagieuses. En Angleterre, où on a plus qu'en France et sur le continent l'habitude de consommer le lait sans le faire bouillir, on a saisi sur le fait, à plusieurs reprises, des épidémies dues à cette cause, et les trois maladies principales qu'on accuse les laitiers de distribuer quelquefois à domicile sont la fièvre typhoïde, la scarlatine et le diphtérie. Je laisse aussi de côté les maladies qu'amène quelquefois la consommation d'un lait altéré, telle que la diarrhée verte des nourrissons nourris au biberon, ou encore ces intoxications véritables, qui ont donné naissance aux travaux récents sur le *tyrotoxicon* ou poison du lait et du fromage. Je reviendrai sur ces points, aussitôt qu'ils se prêteront à un exposé méthodique. Je me borne, pour aujourd'hui, à l'examen des moyens qui peuvent donner au commerce du lait la sûreté et l'élasticité nécessaires. Ils se résument tous en ceci : empêcher l'action des microbes sur le lait.

Cela n'est pas facile. Le lait, qui est un si bon aliment pour les animaux supérieurs, est aussi un excellent terrain de culture pour les microbes, dont il nourrit des milliers d'espèces toujours prêtes à l'envahir. On peut gêner ces ensemencements et les rendre beaucoup moins copieux, en lavant, avant la traite, le pis de la vache et les mains du vacher, en recevant le lait dans des vases bien nettoyés, en le refroidissant aussitôt après la traite, avec l'un quelconque des appareils réfrigérants aujourd'hui utilisés dans les grandes laiteries. Avec toutes ces précautions légitimes, et moyennant l'addition, beaucoup moins légitime, d'un peu de carbonate de soude ou de borax, destiné à saturer l'acide lactique qui se forme si facilement dans le lait, on réussit bien à donner au lait une durée de 24 heures, qui lui permet d'assez longs voyages et des transvasements multipliés; mais il ne peut aller loin. Le rayon d'approvisionnement de Paris, où tout est combiné pour des transports rapides, ne dépasse guère 150 kilomètres; et pendant qu'il y a des contrées entières qui ne savent que faire de leur lait, il y en a d'autres qui ne savent comment s'en procurer.

La fabrication de lait concentré ou condensé n'a été qu'une solution imparfaite du problème, et cela pour trois raisons principales : en premier lieu, cette fabrication, qui exige une installation coûteuse et

des capitaux importants, doit, pour être économique, opérer sur de grandes quantités de liquide faciles à se procurer, et ne peut s'installer que dans des régions privilégiées à ce double point de vue. Ensuite, pour assurer la conservation du produit de l'évaporation du lait, on a été conduit, à l'origine, à l'additionner de proportions très sensibles de sucre qui en change le goût et la composition, et le rend plus difficilement supportable pour un grand nombre d'estomacs ; ce n'est que tout récemment qu'on a réussi à éviter cette nécessité et à fournir couramment au commerce de l'extrait de lait naturel. Enfin et surtout, ce lait, modifié dans son goût et dans sa consistance, est loin d'être économique. Si on étendait d'eau ces laits condensés autant que l'indique le prospectus qui recouvre les boîtes, on aurait non pas du lait naturel, mais du lait mouillé quelquefois de son volume d'eau, et dont le litre est alors payé beaucoup trop cher.

Le véritable problème, celui dont la solution économique serait la plus souhaitable, est la conservation du lait en nature. Si on élimine l'action des antiseptiques, qui sont à rejeter dans l'espèce, il n'y a plus, en fait d'actions pratiques, à mettre en jeu que celle de la chaleur.

Ce n'est pas chose nouvelle. Appert y avait pensé, et il y a une vingtaine d'années on vendait à Paris du lait, donné comme provenant de la Suisse, enfermé dans des bouteilles closes et conservé par une méthode qui était tenue secrète, mais qui devait être celle d'Appert. Cette industrie paraît n'avoir pas réussi et a disparu ; mais la question s'est réveillée dans ces dernières années et a fait des progrès que nos lecteurs auront, je l'espère, intérêt à connaître.

Les principaux ennemis du lait, ou du moins les plus redoutables, appartiennent à cette tribu encore confuse dont on appelle à peu près tous les membres du nom commun de *Bacillus subtilis*. J'ai décrit sous le nom de *Tyrothrix tenuis* une espèce de cette tribu, peut-être une race; car avec les variations de forme et de propriétés que nous commençons à reconnaître aux bactéries, on est obligé d'être très réservé sur ces questions d'espèce. Quoi qu'il en soit, tous ces êtres ont pour caractère commun de coaguler le lait sans le rendre acide, en sécrétant de la présure, et de donner des spores très résistantes à la chaleur, pouvant supporter, sans périr, plusieurs heures de chauffage à 100° dans un liquide neutre ou faiblement alcalin comme le lait. Les très nombreuses bactéries qui rendent le lait acide, et qu'on rassemble aussi à tort sous le nom de *Bacterium acidi lactici*, sont beaucoup moins résistantes à la chaleur, et un chauffage à 100° en a facilement raison, tandis qu'il est impuissant à protéger le lait contre les bacilles producteurs de présure.

On sait en effet depuis longtemps qu'un seul chauffage à l'ébullition ne suffit pas à préserver le lait. Mais Gay-Lussac, qui avait observé ce fait, avait réussi à tourner la difficulté en faisant bouillir le lait d'abord

tous les jours, puis à deux jours de distance. Il n'était pas à ce moment question de microbes, et il n'est pas douteux que si Gay-Lussac avait songé à protéger contre eux son lait stérilisé par trois ou quatre ébullitions successives, il l'aurait vu se conserver indéfiniment sans chauffage nouveau. Il appliquait en effet, inconsciemment, les procédés de stérilisation discontinue qui, employés à nouveau par M. Tyndall, ont fait depuis fortune, et n'ont pourtant guère été employés à la stérilisation du lait, précisément à cause de l'obligation de chauffer à plusieurs reprises le même lait, et de le garder par conséquent en magasin pendant quelques jours.

Mais si un seul chauffage est incapable de stériliser du lait en détruisant les germes qu'il contient, on peut au moins lui demander de paralyser ces germes de destruction pendant assez longtemps pour que ce liquide puisse arriver intact dans l'estomac du consommateur. Cette idée a été déjà mise en œuvre sur plusieurs points en Allemagne, en Suisse et en France. On a préconisé il y a quelques années, en Allemagne, l'appareil de Thiel pour le chauffage ou la pasteurisation du lait, qui était porté rapidement à 75°-85° par un passage sur une surface métallique ondulée chauffée par l'extérieur, puis refroidi brusquement à 10°-12° par un réfrigérant entouré de glace. Depuis, M. Soxhlet, à Munich, abandonnant cette pratique en grand qui n'était pas très sûre, a proposé de stériliser le lait destiné à la consommation, surtout à celle des enfants, et c'est surtout dans cette voie que les recherches se sont multipliées. Pour cela, on divise au préalable le lait dans des flacons proportionnés aux besoins, et dont chacun, par exemple, contiendra la quantité de liquide nécessaire pour un repas ou une journée, on les chauffe au bain-marie à la température jugée utile, qui est en général voisine de 75°, mais qui peut être poussée plus haut. On bouche alors fortement, et après avoir maintenu plus ou moins longtemps l'action de la température, on refroidit et on conserve dans un endroit frais. La stérilisation est évidemment d'autant plus parfaite que la température de chauffage a été plus élevée et l'action de la chaleur plus longtemps maintenue. On sait, en gros, que la durée de l'action ou son intensité peuvent se compenser l'une l'autre.

M. van Geuns a montré qu'un court passage à 75°-85° dans l'appareil de Thiel faisait tomber de 2,500,000 à moins de 10,000 le nombre de microbes contenus dans 1^{cc} de lait marchand. Cette pasteurisation ne pouvait donc que retarder la décomposition du lait. Il est vrai que l'auteur semble vouloir attribuer à d'autres raisons que l'insuffisance du chauffage la persistance des germes dans les laits chauffés. En recommençant en effet l'expérience au laboratoire, sur du lait porté rapidement à 80° et refroidi aussitôt, ou sur d'autres échantillons maintenus à 80° pendant 1, 2, et 5 minutes, il trouve que tous ces laits

sont également stérilisés, ce qui semble donner raison à son mode d'interprétation des premières expériences. Mais il aurait fallu, pour que la conclusion s'imposât, que les laits eussent été les mêmes, sans quoi on est toujours autorisé à attribuer les différences d'action d'une même température de 80° à ce que les microbes étaient différents, et ont pu périr dans un cas, résister au moins partiellement dans un autre.

M. de Freudenreich, qui a fait l'étude d'un lait conservé par le procédé du Dr Egli Sinclair, l'a trouvé très pauvre en germes, et incapable, à la dose de plusieurs centimètres cubes, de féconder un flacon de bouillon, même après avoir été maintenu dans une chambre habitée pendant 20 et 45 heures. Ce lait n'était pourtant pas stérile, car il se peuplait abondamment quand il était maintenu pendant 24 heures à l'étuve. Ces résultats sont bien dans le sens qu'on pouvait prévoir.

Il est clair que les chances de conservation du lait ainsi traité sont d'autant plus grandes que la température du chauffage a été plus élevée. Il y aurait donc intérêt à la porter toujours à la limite extrême de 107 et 108°, qu'il est inutile de dépasser, si on ne rencontrait pas, dans cette voie, deux difficultés qui ont probablement la même origine mais qui restent pourtant distinctes.

La première est que le lait, s'il est trop ou trop longtemps chauffé, surtout le lait qui a été additionné d'un peu de carbonate de soude, ou qui est naturellement un peu plus alcalin que la moyenne, prend une teinte brune au chauffage. Cette teinte n'est pas due, comme on le croit, à un commencement de caramélisation du sucre de lait; c'est la caséine qui est atteinte, et encore pas la portion de caséine en solution parfaite dans le sérum, mais la portion en suspension. La preuve est que si on filtre sur un filtre de porcelaine ce lait bruni, le liquide qui filtre et qui contient le sucre de lait a sa teinte normale, tandis qu'on trouve sur les parois du filtre un dépôt muqueux qui, au lieu d'être blanc de porcelaine, a une teinte brune plus ou moins accusée. Quoi qu'il en soit, ce lait bruni a une teinte qui change son aspect et est une tare commerciale.

Il en a une autre au point de vue du goût : il prend cette saveur bien connue de *lait cuit*, saveur qui est à la fois moins fraîche et un peu plus fade que celle du lait naturel. Le consommateur est ainsi fait qu'il supporte bien cette saveur dans le lait qu'il a fait chauffer lui-même, mais qu'il s'en offusque quand il la rencontre dans un lait venant de chez le marchand. Il y a aussi des goûts ou des estomacs tellement délicats qu'ils ne s'accommodent que du lait resté intact depuis la traite. Mais à ces derniers, il faut recommander de fuir les grandes villes, où leurs goûts sont non seulement difficiles, mais même dangereux à sa-

tisfaire. Il y a de grandes chances pour que les laiteries ou vacheries auxquelles ils demandent leur lait prétendu naturel renferment des animaux tuberculeux. Il serait sage, d'une manière générale, de ne jamais consommer, à l'état naturel, que le lait d'animaux qu'on connaît bien, et, quand ce n'est pas possible, on devrait se féliciter, au lieu de se plaindre, quand on trouve au lait ce goût de *cuit* qui assure qu'il est absolument inoffensif.

A quoi est due cette saveur particulière? C'est ce qu'on ne sait pas bien encore. Elle n'apparaît d'une façon sensible que lorsque le lait a été chauffé au-dessus de 80°. Elle ne semble pas augmenter beaucoup avec le durée du chauffage. Il semble que ce soit un phénomène brusque, comme le serait une coagulation survenant à une température déterminée. Ce qui est d'accord avec cette hypothèse, c'est que le lait n'a plus au microscope la constitution qu'il avait avant le chauffage. Les granulations de caséine, au lieu d'y être d'une finesse telle qu'elles sont presque invisibles, tant le réseau qu'elles forment dans le champ est homogène en tous les points, y prennent un peu l'aspect de grumeaux encore gélatineux, mais plus volumineux qu'avant. Le lait n'a pas non plus tout à fait la même fluidité, et a pris quelque chose de plus visqueux.

Quoi qu'il en soit de cet inconvénient et de ses causes encore obscures, cette industrie du lait stérilisé complètement, par un chauffage convenable, semble devoir s'implanter sérieusement chez nous. On trouve depuis quelque temps dans le commerce des boîtes de ferblanc, cylindriques, analogues aux boîtes de conserves, renfermant un litre de lait qu'un chauffage à température élevée protège contre les microbes, et qui supporte 15 jours et un mois de séjour dans une chambre habitée, sans tourner quand on le fait bouillir ensuite. Il peut donc voyager, supporter le séjour dans un entrepôt, attendre chez le marchand et le consommateur le moment où on en a besoin. Il a pu même être envoyé au Brésil et dans nos colonies, et aller alimenter les malades dans nos hôpitaux du Tonkin et de la Cochinchine.

On comprend que nous ne citions pas de noms. Quand il nous arrivera de traiter de ces questions d'hygiène pratique, nous nommerons bien les savants qui découvrent, et tous ceux qui nous paraîtront avoir observé un fait nouveau, mais jamais les industriels qui exploitent. C'est à la prospérité de l'industrie que nous nous intéressons surtout, parce qu'elle nous semble destinée à amener au consommateur le lait à un prix supérieur tout au plus de 15 à 20 centimes par litre au prix sur place, c'est-à-dire à un prix moitié environ de celui auquel les Parisiens consentent à payer le lait, quand ils veulent se donner l'illusion de compter sur sa pureté.

Précisément parce que nous voudrions voir cette industrie prospère, nous devons mettre ceux qui la pratiquent en garde contre une cause d'insuccès à laquelle ils ne me semblent pas avoir assez pris garde, c'est au mode de fermeture de leurs boîtes ou flacons. Pour les boîtes, on a souvent recours, pour la pose des fonds ou des couvercles, à un simple emboutissage étanche, avec interposition d'un anneau de caoutchouc. Pour les flacons, c'est un bouchon, étanche aussi; mais, dans les deux cas, il y a des chances pour que le liquide stérilisé reste en contact avec l'extérieur par des fentes ou fissures, trop étroites pour laisser passer le liquide, mais assez larges pour que les microbes puissent s'y implanter, y cheminer, et envahir le liquide intérieur. Il est indispensable de garnir les bouchons des flacons d'une couche de paraffine mise à chaud, et d'assurer l'imperméabilité de l'emboutissage par un mastic ou un vernis mou sur les surfaces en contact. J'ai eu l'occasion de donner ce conseil à un industriel qui s'en est très bien trouvé; j'espère qu'il sera utile à d'autres.

Dx.

J. Karlinski. Sur la connaissance des voies de diffusion du charbon. *Centralbl. f. Bact.*, 1889, t. V, p. 5.

L'auteur a eu une fois l'occasion de rencontrer des limaces rassemblées au voisinage du cadavre d'un mouton charbonneux qu'il avait fait enterrer, et qui avait été à moitié déterré par les renards et les chiens. Il s'est alors demandé si les limaces ne pourraient pas servir d'agent de transport aux germes charbonneux. On sait qu'elles ont les goûts voyageurs, et M. Karlinski donne même un exemple curieux de la sûreté avec laquelle elles dirigent leur course. Ayant exposé, à 11 heures du matin, 4 exemplaires adultes de l'*Arion subfuscus* sur un banc de sable où l'air avait une température de 30°, il les trouva tous, à 6 heures du soir, à l'ombre d'une grosse pierre éloignée de 110 pas, et les traces laissées sur le sable témoignaient qu'ils s'étaient dirigés tout droit vers ce refuge. Dans une autre expérience, la marche avait même été plus rapide.

Ces animaux entreprennent, du reste, de grands voyages au commencement de la saison sèche, et on peut se demander s'ils ne jouent pas un rôle comme agents de diffusion du charbon. Pour étudier cette question, M. Karlinski a réuni une grande quantité d'animaux des espèces suivantes : *Arion empiricorum* Ferussac, *Arion subfuscus* Draparn, *Limax cinereoniger* Wolf, *Limax cinereus* Lister, *Limax lævis* Muller, *Tachea nemoralis* L. et *Daudebardia*, et s'est d'abord assuré que toutes ces espèces étaient réfractaires au charbon. L'inocu-

lation de un quart à trois quarts de centimètre cube d'une culture sur gélatine d'un charbon très virulent reste tout à fait sans effet. Le liquide injecté est très rapidement absorbé, et on a constaté sur place une destruction assez rapide des bacilles. En reprenant, après vingt minutes, le liquide de l'œdème artificiel provoqué par l'injection, on trouvait qu'il était incapable de tuer des souris et des cobayes, et qu'à la culture sur plaques, il ne donnait qu'un nombre très restreint de colonies de la bactéridie charbonneuse. Ce temps semble bien court pour une action aussi marquée, et on se demande s'il n'y a pas eu seulement dilution ou diffusion des germes, et non pas destruction véritable. Ce qui confirme dans ce doute, c'est qu'on obtient, en employant des matériaux riches en spores, les mêmes résultats qu'avec des bacilles sans spores. On sait pourtant que celles-ci sont beaucoup plus résistantes vis-à-vis des influences nocives, et il semble qu'elles auraient dû résister davantage à l'action destructive de l'organisme, tandis qu'elles peuvent très bien se comporter comme les bacilles à l'égard de la diffusion ou de la fixation dans les tissus. Les actions d'adhésion moléculaire qui attirent et fixent contre les parois des canaux capillaires d'un filtre Chamberland, par exemple, un microbe dont les dimensions sont plus petites que la section du canal, et qui semblerait devoir y circuler en toute liberté, ces actions sont très capables d'immobiliser, au contact des fibres ou des parois cellulaires, les microbes introduits par une injection dans les tissus, et leur fixation sur certains éléments cellulaires n'a peut-être pas d'autre origine.

Quoi qu'il en soit, après avoir constaté la résistance de ces espèces aux inoculations charbonneuses, M. Karlinski s'est demandé si on pourrait leur donner le charbon par la voie intestinale. Pour le savoir, il en a nourri avec des feuilles de chou et de salade qu'il avait aspergées avec des cultures de charbon très virulent, ou, encore, avec des tranches de pommes de terre qui portaient des cultures de bactéridie charbonneuse. Toutes les tentatives dans cette direction sont restées stériles.

Il était intéressant de chercher ce que devenaient les germes charbonneux qui avaient ainsi pénétré dans le canal intestinal. Pour cela, M. Karlinski a tué quelques-uns de ces animaux, en les plongeant dans l'eau bouillante, après les avoir préalablement lavés à leur surface avec une solution de sublimé à 2 pour 1,000, le tout afin de se débarrasser sûrement des germes qu'ils avaient pu emporter avec les mucosités qui les recouvrent. Il les a ensuite ouverts et a vidé le contenu de leur canal intestinal dans un verre de montre stérilisé, qu'il exposa pendant une demi-heure à l'action d'une chaleur sèche de 110°. On essaye ensuite la virulence de la matière par des cultures sur plaques ou par l'inoculation à des animaux. Dans tous les cas où on avait nourri

les limaces avec des matériaux contenant des spores, on a obtenu, sur plaques, des colonies de bactéridies charbonneuses et les animaux inoculés sont tous morts. Les expériences de contrôle avec des animaux nourris de bacilles sans spores sont beaucoup moins nettes. On se demande, d'ailleurs, comment M. Karlinski a pu s'assurer qu'il *n'y avait pas* et qu'il *ne se formait pas* de spores dans les matériaux employés; mais l'expérience ci-dessus suffit à montrer que les spores de la bactéridie traversent le canal intestinal de la limace sans y subir d'atteinte sensible. Reste à savoir combien de temps elles peuvent y séjourner.

Pour cela, M. Karlinski a donné à douze animaux des espèces ci-dessus désignées un seul repas charbonneux, puis les a transportés, après un nettoyage soigneux, dans un vase nouveau, et, en les étudiant de jour en jour, il a vu que, du 7e au 11e jour, le nombre des germes charbonneux contenus dans les animaux tués pour l'étude ou dans les excréments allait en décroissant, mais qu'au 11e jour, on en trouvait encore.

Des animaux voyageurs qui hébergent ainsi le charbon virulent sans en souffrir, peuvent donc en puiser le germe sur certains points et le transporter sur d'autres. Il est clair que cette cause de diffusion n'est ni bien puissante ni bien active, mais elle n'en est pas moins intéressante à signaler. Ce n'est d'ailleurs pas cette conclusion qui donne son mérite au travail de M. Karlinski, ce sont les faits sur lesquels elle repose et qui ont une portée beaucoup plus générale que la conclusion qu'il en tire, car ils constituent un chapitre encore inédit de l'histoire du charbon dans la série animale. Dx.

SUR L'IMMUNITÉ DES RATS BLANCS CONTRE LE CHARBON.

1. BEHRING. Sur la cause de l'immunité des rats contre le charbon. *Centralblatt für klinische Medicin*, 1888, n° 38, p. 681.
2. FRANK. Sur la disparition des bacilles charbonneux dans l'organisme animal. *Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde*, 1888, vol. IV, nos 23 et 24.

On se rappelle les faits remarquables sur la résistance des rats blancs au charbon, recueillis par M. *Læffler* en 1881 [1]. Après avoir constaté que ces animaux périssent du charbon, même lorsqu'ils avaient résisté aux inoculations préalables plusieurs fois répétées par le même virus, M. *Læffler* en conclut que l'immunité des rats blancs est

1. *Zur Immunitätsfrage*, dans *Mittheilungen aus dem K. Gesundheitsamte*, vol. I, 1881.

un phénomène excessivement variable et inconstant. M. *Straus* [1] a confirmé de son côté que la réceptivité des rats pour le charbon est très variable à différents moments, sans qu'on puisse trouver les raisons de ces variations.

MM. *Behring* et *Frank* ont entrepris leurs travaux pour déterminer la cause de l'immunité des rats blancs contre le charbon; mais les deux auteurs ont abordé cette question d'une manière tout à fait différente. Tandis que M. *Behring* s'attachait à l'étude du sérum sanguin préparé et ensemencé ensuite par des bactéridies, M. *Frank* inoculait les animaux avec du virus charbonneux, dont il suivait les changements successifs dans les tissus de l'animal.

D'après les observations de M. *Behring*, les bacilles charbonneux ne poussent point du tout sur le sérum des rats réfractaires, et il attribue ce fait à l'alcalinité trop prononcée du sang de ces animaux, qu'il évalue comme équivalente à 1 gr. 35 de soude caustique par litre. Après plusieurs injections d'acide oxalique sous la peau des rats, le sérum de ces derniers devient un milieu très favorable à la culture des bactéridies, et les rats ainsi traités acquièrent en même temps une réceptivité pour le charbon.

M. *Behring* ne se prononce pas encore d'une manière définitive sur la nature du corps alcalin qui rend le sérum des rats stérile pour les bactéridies; mais il suppose que ce corps, n'étant ni du groupe des alcalis fixes, ni des terres alcalines, appartient plutôt à celui des bases organiques, notamment des ptomaïnes. Il s'appuie surtout sur la propriété antiseptique bien prononcée de ces substances ajoutées au sérum.

Tandis que, pour M. *Behring*, l'immunité des rats se ramène simplement à la question de stérilité de leur sang, trop alcalin à l'égard des bactéries, M. *Frank*, qui a fait ses observations sur l'animal vivant, déclare catégoriquement que non seulement les spores des bactéridies introduites dans le corps des rats sur des fils de soie germent toujours, mais que les bactéridies pullulent en proportion considérable et provoquent un œdème très prononcé des tissus environnants. Il se forme donc constamment, à la suite de l'infection bactéridienne, un processus morbide qui dure plus de deux jours, mais qui, au lieu de se généraliser dans l'organisme, se termine par une guérison complète de l'animal. Cette guérison est accomplie à l'aide des leucocytes, qui n'englobent jamais les bacilles dans leur intérieur, mais forment, réunis en un amas circulaire, comme une barrière autour de la culture des bactéridies. Ces dernières subissent une dégradation complète sous l'influence de leurs propres produits d'échange, qui s'amassent dans

1. Le *Charbon*, 1887, p. 163.

l'intérieur du processus local, et y sont enfermés par la barrière leucocytaire.

Comme on voit, MM. *Behring* et *Frank* ne sont d'accord que sur peu de points. Tous les deux, ils admettent comme certain que l'immunité des rats blancs est bien constante et tout à fait absolue. Ils ne discutent même pas le caractère si variable de cette immunité, fait bien établi par les auteurs mentionnés au début de cette analyse, et qui doit servir comme point de départ pour les recherches ultérieures.

MM. *Behring* et *Frank* se contredisent sur d'autres questions de principes et, en particulier, en ce qui concerne la relation des bactéridies avec les cellules phagocytes. Tandis que M. *Behring* a vu, conformément aux observations antérieures de M. *Hess* et des miennes, que les bacilles introduits étaient en partie englobés par les cellules, M. *Frank*, au contraire, n'a jamais pu se convaincre de l'englobement intracellulaire des bactéridies, qui lui paraissaient être toujours libres à côté des leucocytes.

On voit bien, d'après tout ce qui précède, que l'immuité des rats blancs contre le charbon est loin d'être une question simple et facilement abordable, et qu'il faut toute une série de recherches nouvelles afin de concilier les contradictions et d'établir les causes réelles d'un si intéressant phénomène.

El. Metchnikoff.

E. Metchnikoff. Sur la manière d'être des bactéries charbonneuses dans l'organisme. *Virchow's Archiv*, déc. 1888.

Quels sont les moyens qu'emploie l'organisme réfractaire pour la destruction des bactéries pathogènes? La phagocytologie répond à cette question en faisant intervenir la digestion intracellulaire, tandis que les adversaires de cette théorie invoquent d'autres influences microbicides hypothétiques, par exemple une sécrétion de diastases.

Pour résoudre ce problème, l'auteur étudie l'action des humeurs des organismes réfractaires en la séparant des influences cellulaires.

Comme l'humeur aqueuse de la chambre antérieure de l'œil ne contient que très peu d'éléments cellulaires, l'auteur introduit les germes et les formes végétatives de la bactéridie charbonneuse dans la chambre antérieure de l'œil des animaux vivants. De cette manière, il a pu constater que, même chez les animaux réfractaires, comme les grenouilles et les moutons vaccinés, l'humeur aqueuse ne s'oppose nullement à la culture charbonneuse. Les germes (même ceux du premier vaccin chez les moutons vaccinés) poussent, les bactéridies (virulentes ou affaiblies) se développent, jusqu'à ce qu'elles soient

arrêtées par l'immigration cellulaire, tandis que les mêmes formes dans le tissu cellulaire des mêmes animaux ne se développent point. Ceci prouve que l'humeur aqueuse des animaux réfractaires ne contient pas des substances nuisibles à la bactéridie charbonneuse.

M. Nuttall était arrivé à des résultats opposés, en trouvant que, même chez le lapin sensible au charbon, l'humeur aqueuse, extraite du corps, a le pouvoir de détruire la bactéridie charbonneuse. M. Metchnikoff fait ressortir l'étrangeté de ce résultat, en montrant que le charbon, inoculé dans la chambre antérieure de l'œil du lapin, s'y développe en entraînant la mort de l'animal.

Mais, comme l'humeur aqueuse est un liquide spécial qui pourrait ne pas contenir des substances microbicides qui existeraient dans le sang, l'auteur a dû recourir à d'autres méthodes pour isoler la bactéridie des influences cellulaires. Il a, notamment, enveloppé les microbes dans des sacs de moelle de roseau, dans des « *saucissons* » préparés avec des intestins de grenouilles, enfin, et plus simplement, dans du papier à filtrer. Les germes, ainsi protégés contre les cellules introduites sous la peau des grenouilles, poussent toujours en donnant des bacilles normaux, tandis que les germes non protégés sont étouffés par les cellules.

Les expériences avec les « saucissons » avaient été entreprises pour contrôler celles de M. Petruschky, qui a vu, dans ces conditions, la mort des bactéridies dans leur enveloppe, en dehors des influences de cellules. L'auteur fait voir que M. Petruschky a eu le tort d'employer, pour ces expériences, des cultures qui peuvent toujours contenir des bactéridies mortes. En introduisant dans les saucissons du sang charbonneux de cobayes, l'auteur a vu les bactéridies se développer normalement sous la peau des grenouilles et y conserver leur virulence au moins jusqu'au 6e jour. Il résulte de tous ces faits, surtout des expériences avec les enveloppes de papier, que les humeurs des grenouilles vivantes n'ont aucune action microbicide vis-à-vis du charbon. D'un autre côté, l'auteur confirme une fois de plus ce fait que, dans les conditions naturelles, les bactéridies non protégées sont mangées à l'état vivant par les cellules des grenouilles réfractaires. C'est ce qu'on démontre par l'emploi de la solution aqueuse de vésuvine qui ne colore pas les bactéridies vivantes. Les objections que M. Petruschky a soulevées contre cette méthode proviennent de ce que ce dernier a employé une solution trop concentrée, qui tuait les microbes vivants et les colorait ensuite.

GAMALÉIA.

G. Firtsch. Recherche sur les phénomènes de variation chez le Vibrio Proteus (bacille-virgule de Finkler Prior). *Arch. f. Hygiene*, VIII.

Ce travail, fait au laboratoire de M. le professeur, Max Gruber à Gratz, tend à établir que les formes des colonies sur plaques de gélatine ne sont ni aussi caractéristiques ni aussi invariables qu'on l'admet d'ordinaire. L'auteur a réussi à séparer quatre formes du vibrion protée qui se distinguent entre elles, au point de pouvoir constituer des espèces distinctes, par leur aspect microscopique, par la forme de leurs colonies sur plaques, par leur croissance dans les tubes de gélatine. L'auteur désigne par les noms de premier, deuxième et troisième vibrion les nouvelles formes qu'il a trouvées.

Le *vibrion I* se distingue de la forme typique principalement par l'aspect des cultures sur plaques. Au lieu de présenter des colonies qui liquéfient rapidement la gélatine en pullulant dans toute la zone liquéfiée qui devient trouble, la colonie du *vibrion I* se compose d'une masse brune de bactéries, entourée d'une zone de liquéfaction tout à fait claire. Ces bactéries sont immobiles dans ces conditions. Pourtant, le quatrième et le cinquième jour de culture, ces zones claires commencent à se troubler.

Le *vibrion II* s'éloigne encore davantage de la forme primitive, et présente une très grande ressemblance avec le bacille du choléra. Les colonies jeunes sont d'une teinte jaune clair, et avec un contour ondulé. La zone de liquéfaction reste toujours parfaitement limpide. Les cultures dans les tubes de gélatine ressemblent aussi beaucoup au bacille du choléra. La seule différence est qu'elles ont une vitesse un peu plus grande de développement.

Le *vibrion III* donne les mêmes colonies sur plaques que le précédent ; son développement dans les tubes de gélatine est encore plus lent ; mais il diffère du *vibrion II* en ce que la partie liquéfiée devient trouble. Les formes microscopiques diffèrent de toutes les précédentes. Au lieu d'être, dans les cultures récentes, des bacilles plus ou moins droits, le *vibrion III* présente dès l'origine la forme vibrionienne.

Tous ces trois vibrions ont été isolés par l'auteur de cultures pures et plus ou moins anciennes sur gélatine. Il existe, du reste, entre eux encore des formes intermédiaires, et le *vibrion I* se laisse facilement changer en *vibrion Protée* ou *vibrion II*.

Le *vibrion I* apparaît dans les cultures sur gélatine vieille de 30-40 jours, le *vibrion II* après 50 jours, le *vibrion III* vers le quatre centième jour. Leur production doit être attribuée, d'après l'auteur, au manque de nourriture et d'oxygène dans les vieilles cultures. Ainsi,

par exemple, la culture pure du *vibrion I* donne principalement naissance, dans la pellicule de surface, au *vibrion protée*, et au fond, au *vibrion II*.

L'auteur prévient contre la généralisation trop hâtive de ces résultats.

« Quelque grandes que paraissent les différences dans l'aspect des colonies de ces vibrions nouveaux, elles se laissent probablement expliquer par l'atténuation différente de l'énergie de croissance, de la puissance de dissoudre la gélatine, et de la faculté du mouvement spontané; tous ces phénomènes d'atténuation ne sont certainement pas plus importants que la perte de la faculté de sporulation, de fermentation, de virulence. » Dans un appendice, M. le professeur Gruber confirme les résultats de M. Firtsch, ayant aussi réussi à isoler les formes décrites par ce dernier.

Outre leur intérêt général, sur lequel a insisté l'auteur, ces résultats ont un intérêt particulier facile à saisir, pour la morphologie du groupe des bacilles-virgules.

N. Gamaléia.

H. Kuhne. Sur la coloration des bacilles dans les nodules morveux. *Fortschritte d. Medicin*, 1888, p. 860.

La grande difficulté que l'on éprouve à colorer les bacilles de la morve dans les tissus, est un fait bien connu de ceux qui s'y sont essayés. M. Kühne, déjà illustré par ses travaux sur la technique de diverses colorations, nous indique aujourd'hui un procédé nouveau pour mettre en évidence les bacilles de la morve dans les coupes des organes, et qui donne des résultats excellents. Les matériaux d'étude lui avaient été fournis, il y a quelques années, par M. Gaffky. Après beaucoup de tâtonnements, M. Kühne reconnut qu'un trop long séjour des coupes dans la matière colorante ne fait que nuire à la différenciation des microbes d'avec le tissu, tandis qu'une coloration moins intense donne souvent de très bonnes images, si l'on sait employer des décolorants appropriés. Partant de ce point de vue, M. Kühne recommande le procédé suivant :

Les coupes sont d'abord portées de l'alcool dans l'eau, puis on les traite par le bleu de méthylène phéniqué pendant 3 ou 4 minutes. Un court séjour dans l'eau acidulée suffit alors pour donner aux nodules morveux la teinte bleu pâle désirable. Pour empêcher la décoloration de se poursuivre ultérieurement, on lave soigneusement dans l'eau; puis, après déshydratation rapide par l'alcool, on plonge les coupes

pendant 5 minutes dans un bain d'huile d'aniline auquel on a ajouté 6 à 8 gouttes d'essence de térébenthine, pour la quantité de teinture contenue dans les petites cuvettes ordinaires. On termine la préparation en traitant successivement la coupe par l'essence de térébenthine pure et le xylol, puis en l'enfermant dans le baume de Canada. Les nodules sont alors parfaitement transparents, et les bacilles ressortent de la façon la plus nette.

M. Kühne a essayé ce procédé de coloration aussi pour d'autres microbes difficilement colorables dans les tissus (choléra asiatique, choléra des poules, fièvre typhoïde, etc.). Les résultats qu'il a obtenus ont été, dit-il, excellents.

Si l'on désire avoir une double coloration, on traite les coupes teintes déjà en bleu et sortant du bain de xylol (V. plus haut) par de l'essence de térébenthine à laquelle on a mélangé 5 gouttes d'une solution de safranine, ou mieux 2 gouttes d'auramine anilinée. Les bacilles ressortent mieux sur ce fond légèrement rosé ou verdâtre.

Yersin.

E. di Mattei. Sur la transmission de quelques immunités artificielles de la mère au fœtus. *Bollett. d. Accad. medica de Rome*, 1887-1888, fascic. 8, VIII.

La question de la transmission au fœtus des immunités naturelles ou artificielles de la mère n'a encore fait l'objet d'aucun travail dirigé spécialement en vue de la résoudre, ou ayant donné, dans cette direction, des résultats probants. Que cette transmission soit possible au moins chez certaines espèces et pour certaines maladies, c'est ce qui résulte de ce qu'on a observé sur l'homme à propos de la syphilis, de la variole, et des faits bien connus observés sur les animaux par MM. Toussaint [1], Chauveau [2], Arloing, Cornevin et Thomas [3], à propos du charbon et du charbon symptomatique. Que cette transmission ne soit pas la règle, et qu'il s'y présente quelquefois des exceptions singulières, c'est ce qui résulte des travaux de Loeffler [4] et d'autres expérimentateurs. Il y a probablement là un mécanisme physiologique ou pathologique à mettre en lumière, mécanisme qui entrerait en fonction dans quelques cas et pas dans

1. *Comptes rendus*, 8 mars 1880.

2. Sur le mécanisme de l'immunité. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1888, et sur la théorie des inoculations préventives (*Revue de médecine*, 1887).

3. *Le Charbon symptomatique*, Paris, 1887.

4. Sur la question de l'immunité. *Mittheilungen*, 1881.

d'autres, et nous donnerait ainsi la clef des variations et des contradictions observées.

Rappelons-nous d'ailleurs que le mécanisme de cette transmission héréditaire n'est ailleurs ni plus régulier ni plus général. Il y a des traits du caractère ou de la physionomie qui sont transmissibles, mais tous les enfants ne ressemblent pas à leurs parents. Il y a des difformités, naturelles ou acquises, qui passent de génération en génération, mais d'autres qu'on ne peut rendre héréditaires. Tel est par exemple le cas de la circoncision chez les juifs. Rien ne nous autorise à penser que la transmission héréditaire de l'immunité, qui résulte d'un phénomène au moins aussi délicat que les transmissions précédentes, ait une marche plus sûre.

M. di Mattei a cherché à savoir quelle influence subit et communique à ses fœtus une femelle pleine qu'on a vaccinée par un virus atténué. Il a opéré sur le lapin et le cobaye, et a limité ses recherches au charbon, au choléra des poules et au rouget du porc. On peut dire *a priori* que le lapin, sur lequel il a surtout opéré, est un animal tellement sensible à ces maladies, et tellement difficile à vacciner, que le choix était peut-être mauvais pour juger de la transmission d'une immunité héréditaire. Il ne faut pas évidemment, non plus, prendre pour cette étude des espèces réfractaires; mais entre les deux extrêmes il y a de la marge, et quand on veut étudier la transmission d'une qualité quelconque, il est sage de prendre une espèce dans laquelle cette qualité est très accusée.

Aussi, dans aucune de ses expériences, qui n'ont il est vrai porté que sur une douzaine de femelles, M. di Mattei n'a pu constater aucune transmission héréditaire d'immunité de la mère au fœtus. La mise bas avait lieu comme à l'ordinaire. On ne constatait pas d'avortements anormaux. L'auteur signale seulement une mortalité un peu plus grande qu'à l'ordinaire sur les petits, mais on sait combien il est difficile d'amener à bien une portée de lapins dans nos laboratoires. Dans leur ensemble, ces résultats sont analogues à ceux que Loeffler a obtenus sur les rats, et en contradiction avec ceux que nous avons rappelés en commençant cet article. Mais ces contradictions ne sont pas faites pour nous surprendre : il faut se contenter de les enregistrer, jusqu'au jour où un observateur plus habile ou plus persévérant nous en donnera la loi.

Dx.

INSTITUT PASTEUR

Personnes prises de la rage pendant le traitement.

ALLÈGRE (Louis), 14 ans, de Cambes, Gironde. Mordu le 25 décembre 1888 par un chien reconnu enragé par M. Uzerau, vétérinaire. Les morsures sont au nombre de 9 sur les doigts et sur le dos de la main gauche. 3 sont très profondes. La main droite porte, en outre, 2 morsures très pénétrantes, l'une au pouce, l'autre à l'index. Ces blessures, qui ont beaucoup saigné, ont été cautérisées 5 heures après au thermocaistère par un médecin. La cautérisation est tout à fait insuffisante, à cause du nombre et de la profondeur des plaies.

Allègre a été mis en traitement le 28 décembre. Il a été pris de malaise pendant le cours du traitement, le 10 janvier. Le 11, il a éprouvé des douleurs violentes dans le bras droit. Le 12, il a eu des vomissements et de la céphalalgie. Le soir de la même journée, l'aérophobie s'est montrée. Allègre a été transporté à l'hôpital des Enfants malades, où il est mort le 14, après avoir présenté tous les symptômes de la rage convulsive. L'incubation de la maladie n'a été que de 16 jours.

Des lapins inoculés avec le bulbe du chien mordeur, par M. Uzereau vétérinaire ont succombé à la rage.

MAYLAND (Rose), âgée de 3 ans, de Belbeuf, Seine-Inférieure. Mordue le 13 décembre. 1° à la joue droite qui porte une blessure au-dessous de l'œil et deux blessures près de la narine : ces blessures pénétrantes ont donné beaucoup de sang ; 2° à l'oreille droite : le lobule de l'oreille est traversé, une autre blessure siège sur la joue au-dessous du lobule ; 3° à l'avant-bras droit, sur lequel on compte 3 morsures fortes ayant saigné. Les habits ont été déchirés par les dents. Le chien mordeur avait été lui-même mordu par un autre chien reconnu enragé. Cinq autres personnes ont été mordues par le chien qui a attaqué Mayland. L'autopsie de l'animal a été faite par M. Philippe, vétérinaire à Rouen, qui certifie la rage.

R. Mayland a été traitée du 15 décembre 1888 au 5 janvier 1889. Ce jour même elle est devenue malade. Le 6 janvier sa maladie s'est caractérisée, et elle a succombé à la rage convulsive le 9 janvier.

L'incubation de la maladie a été de 22 jours.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE[1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — DÉCEMBRE 1888.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	1	6	»	3	3	»	»	»
Morsures à la tête et à la figure — multiples	»	5		»			»	»	
Cautérisations efficaces	1	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	1	»	»	1	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	4	»	»	2	»	»	»	»	»
Morsures aux mains — simples	»	13	30	»	9	41	»	8	12
Morsures aux mains — multiples	»	17		»	32		»	4	
Cautérisations efficaces	2	»	»	1	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	2	»	»	13	»	»	1	»	»
Pas de cautérisation	26	»	»	27	»	»	4	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	3	7	»	6	29	»	3	7
Morsures aux membres et au tronc — multiples	»	4		»	23		»	4	
Cautérisations efficaces	1	»	»	5	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	4	»	»	9	»	»	4	»	»
Pas de cautérisation	2	»	»	15	»	»	2	»	»
Habits déchirés	7	»	»	26	»	»	7	»	»
Morsures à nu	»	»	»	3	»	»	»	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	2	2	»	4	4	»	1	1
Cautérisations efficaces	»		»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	2	»	»	1	»	»	1	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	3	»	»	»	»	»
Habits déchirés	2	»	»	2	»	»	1	»	»
Morsures à nu	2	»	»	3	»	»	1	»	»
Totaux. — Français et Algériens	..	43	45	..	65	77	..	19	20
Totaux. — Etrangers	..	2		..	12		..	1	
		A			B			C	
TOTAL GÉNÉRAL					142				

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 136 fois; chats, 6 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. FÉVRIER 1889. N° 2

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES PHYSIOLOGIQUES SUR LES SULFOBACTÉRIES

Par M. S. WINOGRADSKY.

En 1887, j'ai publié [1] les résultats de mes recherches physiologiques sur les organismes des eaux sulfureuses. Dans un autre travail, plus étendu [2], j'ai montré depuis que ces êtres singuliers, assez nombreux pour que j'aie pu y distinguer 15 genres et plus de 25 espèces différentes, forment un groupe physiologique, très nettement caractérisé par le rôle que joue le soufre dans leur économie. Pour marquer cette ressemblance physiologique, qui va très loin, je leur ai donné le nom de *Schwefelbacterien* ou de *Sulfobactéries*.

L'impossibilité d'appliquer, à l'étude de ces organismes, les méthodes connues et éprouvées dans la science des organismes inférieurs rend leur étude difficile. Je n'ai réussi par aucun moyen à cultiver les *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Chromatium*, etc., à l'état pur dans des ballons renfermant un liquide nutritif, ce qui aurait été évidemment le meilleur moyen de se renseigner sur leurs besoins nutritifs. Ces organismes périssent aussi rapidement sur les milieux solides de culture, ce qui empêche de les isoler avec facilité.

1. Sur les sulfobactéries. *Bot. Zeitg*, 1887. *V.* ces *Annales*, t. I, p. 548.
2. Sur la morphologie et la physiologie des sulfobactéries. *Beitr. z. Morphol. und Physiol. d. Bacterien*, fasc. I, Leipzig, 1888.

La raison en est, comme je l'ai démontré, dans la singularité de la nutrition de ces êtres, qui les différencie de la plupart des espèces dépourvues de chlorophylle. Ils ne se développent bien que dans des eaux tenant en solution une quantité modérée, mais constante, d'hydrogène sulfuré ; l'accès de l'air doit pourtant être libre, puisque ce sont des organismes aérobies ; la teneur en matière organique du milieu doit être tout à fait minime, mais constante aussi. Toutes ces conditions ne sont complètement réalisables que si on renouvelle constamment le liquide approprié à la culture : c'est ce qui a lieu dans les sources sulfureuses. On s'explique ainsi la végétation si riche des sulfobactéries dans ces sources et leur développement difficile ailleurs.

Ces difficultés m'ont conduit à imaginer une méthode simple d'investigation physiologique en petit, avec des flocons de filaments gros comme une tête d'épingle et noyés dans une goutte d'eau. Cette méthode, d'une application restreinte dans les cas ordinaires, peut pourtant, dans quelques cas difficiles, mener au but par un chemin plus court et plus sûr que les cultures en grand. Il est toujours facile de trouver un flocon de Beggiatoa presque pur, ou de le purifier par des moyens mécaniques. Cet état de demi-pureté, qui serait mauvais pour une culture ordinaire, est suffisant pour une culture sous le microscope, à l'aide duquel on peut contrôler de jour en jour, presque d'heure en heure, la part de développement et d'action des germes étrangers. De plus, on peut, en faisant varier la constitution du liquide nutritif et en comparant l'élongation ou la multiplication des filaments du Beggiatoa, arriver à juger, presque aussi sûrement que dans une culture pure, des besoins nutritifs de l'espèce étudiée.

En imitant les conditions d'existence des sulfobactéries dans la nature, j'ai réussi à faire végéter dans une goutte d'eau, et cela pendant des semaines et des mois, des Beggiatoa, des Thiothrix et d'autres espèces. J'ai pu observer directement l'influence du milieu sur leur développement, et les phénomènes visibles de leur nutrition. Quant aux changements chimiques du milieu de culture, mis en évidence par des actions microchimiques, j'ai cru devoir les attribuer aux actions physiologiques des sulfobactéries, quand j'avais suivi de près l'évolution régulière de ces

êtres, et constaté leur caractère normal, ainsi que l'absence d'organismes étrangers.

La difficulté est précisément de démêler la vie physiologique de ces êtres des phénomènes morbides dont ils deviennent si facilement le siège, ou des actions intercurrentes. En voici une preuve des plus caractéristiques.

Tous les savants qui ont étudié ce sujet ont observé que si on introduit de la barégine dans des bouteilles remplies d'eau et bouchées, il s'y forme infailliblement de l'hydrogène sulfuré. On a naturellement attribué la production de ce gaz à l'activité vitale des organismes de la barégine. Cette interprétation est inexacte, le fait restant vrai. En soumettant, en effet, le contenu de ces bouteilles à une investigation microscopique systématiquement répétée, j'ai remarqué que dans ces conditions les filaments immergés périssent rapidement. Au bout de 3 à 5 jours, quand la production d'hydrogène sulfuré commence, on trouve déjà quantité de filaments morts, et quelques jours après, quand le liquide est saturé de H^2S, on n'en trouve plus de vivants. Les filaments gonflés, à demi désorganisés, que l'on découvre au microscope, sont alors privés des grains de soufre qu'ils contiennent toujours à l'état normal.

Je pouvais donc conclure que l'hydrogène sulfuré se formait aux dépens du soufre intracellulaire, mais il devenait très difficile d'attribuer cette conversion à l'activité vitale des sulfobactéries.

Ce doute se confirme pleinement, si on suit jour par jour la marche du phénomène au microscope. On transporte quelques flocons de Beggiatoa, très riches en grains de soufre, dans une goutte d'eau sur porte-objet, et on la recouvre d'une lamelle de 22-25^{mm}, de manière que les flocons restent au centre de la goutte qui s'écrase en les débordant de tous côtés. On tue alors les filaments en les lavant à l'eau distillée [1]. En les observant ensuite de jour en jour pendant quelque temps, on voit, à mesure que les cellules mortes perdent leur soufre, une marge jaunâtre de grains et de cristaux de soufre se former le long des bords de la goutte, qui exhale une odeur très sen-

1. L'eau distillée tue rapidement les filaments de Beggiatoa. Ils deviennent de suite immobiles, perdent leur turgescence, se tordent, se cassent, se gonflent quelquefois, puis entrent en décomposition.

sible d'hydrogène sulfuré. La production de ce gaz dure tant qu'il reste du soufre au centre de la goutte. Enfin les filaments se désorganisent complètement et finissent par être méconnaissables.

La marche du phénomène est facile à comprendre. Le soufre se combine à l'hydrogène à l'abri de l'air, et l'hydrogène sulfuré, décomposé au contact de l'air, dépose aux bords de la goutte du soufre qui subit ainsi une migration du centre à la périphérie. Mais par quel mécanisme se produit la combinaison du soufre et de l'hydrogène? C'est une question qui, l'expérience précédente le montre, ne touche pas à la physiologie des sulfobactéries, puisqu'elles sont malades quand elle commence, et mortes quand elle a son maximum d'intensité. Il est probable qu'elle est due à l'action des organismes de la putréfaction, qui apparaissent bientôt dans la goutte et y pullulent autour des filaments morts. On sait qu'il se produit de l'hydrogène sulfuré dans la putréfaction de toutes les matières organiques contenant du soufre.

J'ai cru devoir insister sur cette expérience et sur son exacte interprétation, parce que nous y trouvons des enseignements dont nous aurons à profiter tout à l'heure, mais je reconnais qu'elle ne contredit en rien la possibilité d'une action réductrice de la part des sulfobactéries dans d'autres conditions plus favorables. La faculté de réduire les sulfates, avec production d'hydrogène sulfuré, leur a été attribuée par Lothar Meyer [1], Cohn [2], Plauchud [3], Etard et Olivier [4]. Les granulations de soufre, dont se garnissent les bactéries dans les eaux sulfureuses, constituent même, suivant MM. Etard et Olivier, un témoin des phénomènes de réduction s'accomplissant dans le protoplasma de l'être vivant.

L'expérience m'a, au contraire, amené à cette conclusion, exprimée un peu avant moi par M. Hoppe-Seyler [5], que les sulfobactéries ne sont pour rien dans la réduction des sulfates en présence des matières organiques, et que la formation d'hydro-

1. *Journal f. prakt. Chemie*, t. XCI, § 864.
2. *Beitraege z. Biologie d. Pflanzen*, t. I, fasc. 3, 1875.
3. *Comptes rendus*, 1878.
4. *Comptes rendus*, 1882.
5. *Zeitschr. f. phys. Chemie*, t. X, fasc. 5, 1886.

gène sulfuré résulte d'un phénomène secondaire, d'une fermentation à l'abri de l'air.

Il est tout d'abord bien facile de se convaincre que la formation des granules de soufre, dans les cellules de sulfobactéries, est due, non à la réduction des sulfates, mais à l'oxydation de l'hydrogène sulfuré de l'eau. Des filaments de Beggiatoa, immergés dans une solution de sulfates et en culture suffisamment pure, perdent rapidement leurs granules de soufre et n'en forment plus, si longtemps qu'on les y laisse. Mais aussitôt qu'on leur donne un peu d'eau contenant de l'hydrogène sulfuré, fût-ce même la solution de sulfate dans laquelle ils vivent, et dans laquelle on a fait barboter quelques bulles de ce gaz, on voit de nouvelles granulations apparaître au bout de 2 à 3 minutes, et remplir les cellules au bout de quelques heures. Il n'y a donc aucun doute à avoir sur l'origine du soufre dans les sulfobactéries.

Quel est le rôle physiologique de ce soufre si avidement et si abondamment emmagasiné par le protoplasma des cellules vivantes? C'est une question que j'ai longuement étudiée. Je suis arrivé à ce résultat qui a été tout récemment contesté par M. Olivier[1], c'est que ce soufre est transformé en acide sulfurique par la plante. La démonstration de ce fait, par le procédé que j'ai suivi, est à la fois si simple et si sûre, que je ne puis deviner ce qu'on peut lui reprocher, ni comment, si M. Olivier l'a essayée, il peut en contester les résultats.

J'ai commencé par étudier les réactions microchimiques qui peuvent servir à déceler la présence de l'acide sulfurique, et je me suis arrêté à l'emploi d'une solution de chlorure de baryum, acidulée avec de l'acide chlorhydrique. Quand le liquide contient un sel de chaux, il est tout aussi commode de l'évaporer tout simplement, et d'observer au microscope la formation des cristaux si caractéristiques de sulfate de chaux. Mais j'ai préféré la réaction du sulfate de baryte.

L'emploi de l'eau distillée est toujours à rejeter avec les Beggiatoa, qui meurent dans ce liquide. On peut heureusement la remplacer par une eau de source très pauvre en sulfate. Celle dont je me suis servi ne renfermait que 0,0014 °/₀ d'acide

1. *Comptes rendus*, 18 et 25 juin 1888.

sulfurique. Cette teneur est inférieure à celle qui permet la formation, sous l'influence d'une goutte de liquide barytique, de cristaux de sulfate de baryte reconnaissables au microscope. Il faut aller, pour cela, au moins à 0,004 °/₀ d'acide sulfurique. La réaction microchimique est donc moins sensible dans ce cas que la réaction macroscopique, mais j'y trouvais l'avantage de n'obtenir la réaction de l'acide sulfurique, sous le microscope, qu'après un enrichissement considérable du liquide initial en acide, et de la rendre ainsi indépendante de la dose de sulfate de chaux existant à l'origine dans l'eau dont je me servais.

On prend alors quelques flocons de filaments, aussi semblables que possible, riches en soufre. On les lave dans une cuvette, remplie d'eau de source fréquemment renouvelée, et on les transporte ensuite dans une série de gouttes, de grandeurs égales, disposées sur des porte-objets. On les divise en deux lots en laissant dans le second les gouttes les plus riches en filaments. Ce lot servira de témoin. On y tue les filaments en les chauffant légèrement ou en les laissant dans une atmosphère saturée de chloroforme. Les filaments du premier lot restent vivants, et leur état est soigneusement contrôlé au microscope pendant toute l'expérience.

En soumettant après 24, 48 heures, etc., les gouttes de chaque lot à la même épreuve, par le liquide barytique, je fus frappé par la précision des résultats : quantité de cristaux de sulfate de baryte ou de sulfate de chaux dans les gouttes de *Beggiatoa* vivantes; aucune réaction dans les gouttes témoins, qui pourtant étaient plus riches en matériaux renfermant du soufre. En comparant au microscope la quantité de cristaux de sulfate de baryte, avec celles que me donnaient au même moment des solutions titrées d'un sulfate, j'ai pu me faire une idée approximative de la rapidité du phénomène d'oxydation dans les cellules vivantes.

J'ai trouvé dans une expérience les chiffres suivants. La teneur en acide sulfurique d'une goutte de 2 à 3 dixièmes de centimètre cube, d'eau de source à 0,0014 °/₀ d'acide sulfurique et contenant un flocon minime de *Beggiatoa*, a atteint :

Après 24 heures	0,0066 p. 100.
— 48 —	0,0093 —
— 5 jours	0,0445 —
— 8 —	0,0486 —

La quantité d'acide sulfurique dans le liquide baignant les filaments vivants était donc devenue plus de 34 fois plus grande qu'à l'origine, tandis que, dans les gouttes témoins, elle était restée inférieure jusqu'à la fin, dans cette expérience, à la limite de sensibilité de la réaction microchimique, c'est-à-dire que la quantité d'acide, formée par oxydation purement chimique du soufre des cellules mortes, n'avait augmenté, au maximum, que de 0,0014 % à 0,004 %, ou de trois fois sa valeur primitive.

Ainsi le rôle physiologique des sulfobactéries est purement oxydant. L'hydrogène sulfuré du milieu ambiant est oxydé dans leur protoplasma, et il s'y dépose du soufre, qui est à son tour transformé en acide sulfurique et excrété. Le protoplasma de l'être vivant intervient activement dans ce phénomène de combustion, et le rend particulièrement intense. L'énergie devenue disponible dans cette combustion est, comme je l'ai démontré par des expériences spéciales, la source principale, ou même, comme je le crois, unique de leur vie.

Les lecteurs des *Annales* connaissent déjà quelques-uns de ces résultats; mais j'ai cru devoir insister sur mes méthodes, parce qu'elles me fournissent non seulement le moyen de réfuter les objections de M. Olivier, mais d'attaquer ses conclusions.

M. Olivier ne s'occupe pour cette fois que du rôle physiologique du soufre déjà déposé en réserve dans les cellules des « organismes à soufre de la barégine et de la glairine », ce qui est la même chose que ce que j'appelle beaucoup plus brièvement les *sulfobactéries*. Son mode opératoire ne diffère pas de celui que j'avais critiqué dans mon travail et rejeté comme trop peu sûr. Il introduit dans des ballons de la barégine ou de la glairine fraîche, lavée à l'eau distillée, et l'y abandonne immergée dans ce même liquide, pendant un temps assez long.

La matière sur laquelle il opérait ainsi était-elle pure, formée d'une espèce unique ou d'espèces à fonctions physiologiques semblables? J'ai analysé maintes fois au microscope, près des sources mêmes, les végétations blanches des eaux sulfureuses : je les ai toujours trouvées formées d'espèces des genres *Beggiatoa* et *Thiothrix*, qui y sont dans un état plus pur qu'ailleurs; mais leurs masses visqueuses sont pénétrées d'impuretés de toute sorte, dont il est impossible de les débarrasser mécani-

quement. On y trouve des bactéries diverses, des oscillaires vertes, beaucoup d'infusoires, de vers, des Beggiatoa mortes, des débris végétaux, des cristaux de soufre, des grumeaux limoneux riches en sulfure de fer, etc., etc.

Les produits formés par la fermentation de cette masse hétérogène sont considérés par M. Olivier comme dus exclusivement à l'action physiologique des organismes à soufre. Il observe la formation d'acide carbonique, d'hydrogène sulfuré, de sulfocyanhydrate d'ammoniaque. La découverte de ce dernier corps dans les produits de désassimilation lui semble un fait absolument nouveau, qui assigne au soufre intra-cellulaire une fonction dont on ne connaissait jusqu'alors aucun exemple en physiologie, celle de remplacer l'oxygène dans la transformation des albuminoïdes en amides, et, d'une façon générale, dans la combustion de la matière vivante.

Cette théorie me semble très peu fondée, et l'interprétation des phénomènes observés par M. Olivier très différente de celle qu'il propose. Nous savons déjà que les organismes très délicats sur lesquels il opère périssent facilement quand on les met dans de mauvaises conditions d'existence. M. Olivier leur impose le manque d'air et le contact de l'eau distillée. Il ne dit pas s'il a contrôlé les cultures au microscope, et si les organismes dont il voulait étudier les fonctions physiologiques avaient un air normal, si les *Beggiatoa* étaient bien mobiles, etc. Je ne crois pas me tromper en admettant le contraire. La putréfaction ne tarde pas à s'emparer de cette masse de sulfobactéries mortes et de débris divers. Rien d'étonnant à ce qu'il se forme alors de l'acide carbonique et de l'hydrogène sulfuré : c'est toujours le cas avec des matières organiques contenant du soufre. Quant à la formation du sulfocyanhydrate d'ammoniaque, il m'est difficile de lui attribuer la signification ou l'importance que lui donne M. Olivier.

A propos de la signification, je dois faire remarquer que la présence de l'acide sulfocyanhydrique dans les produits de désassimilation cellulaire est un fait depuis longtemps connu en physiologie. M. Raulin[1] l'a trouvé dans les cultures d'*Aspergillus niger*, M. Munk[2], dans l'urine de l'homme à la dose de 0gr,08

1. *Annales des sc. naturelles*, 1870.
2. *Arch. f. path. Anat.*, t. LXIX, p. 354.

par litre. Une analyse de M. Gschleiden [1] n'en a donné que 0gr,0225 par litre. Depuis, on l'a retrouvé dans l'urine de beaucoup d'animaux. Or on admet assez généralement aujourd'hui que les phénomènes de désassimilation cellulaire donnent naissance partout aux mêmes produits. Néanmoins, il serait intéressant de chercher cet acide [2] dans les produits de putréfaction d'une matière contenant du soufre.

Relativement à l'importance, je remarque que rien, dans le travail de M. Olivier, ne témoigne que ce corps se forme autrement qu'en proportions très faibles, toujours faciles à déceler, à cause de la sensibilité des réactifs de l'acide sulfocyanhydrique, mais que rien n'autorise à mettre en rapport d'équivalence avec la quantité de soufre disparue des cellules qui l'ont produit.

M. Olivier consacre enfin une longue série d'expériences à démontrer que la formation de l'hydrogène sulfuré dans les ballons où il enferme de la barégine avec de l'eau distillée et désaérée ne s'explique pas par une oxydation du soufre intra-cellulaire, suivie de la réduction du sulfate ainsi formé, mais par une transformation directe de ce métalloïde en hydrogène sulfuré. Là-dessus, M. Olivier a raison. Rien d'autre ne pouvait se produire dans des flacons d'où on a éliminé l'air qu'on a remplacé par de l'hydrogène. Nous savons déjà que l'hydrogène sulfuré peut provenir tout aussi bien de l'hydrogénation du soufre que de la réduction des sulfates [3]. S'il n'y avait pas trace de sulfates dans le liquide, c'est à la première cause qu'il fallait attribuer la formation d'hydrogène sulfuré. Mais cette conclusion très exacte n'a rien à faire avec mes idées et mes conclusions sur le rôle physiologique du soufre dans les sulfobactéries, car il ne s'agit

1. *Arch. f. gesamm. Physiol.*, t. XIV, p. 401, et t. XV, p. 350.

2. M. Olivier combine l'acide sulfocyanhydrique à l'ammoniaque pour avoir dans les produits des organismes à soufre « un dérivé sulfosubstitué d'un isomère de l'urée ». L'ammoniaque ne manque certainement pas dans les produits de putréfaction dans le liquide, mais M. Olivier n'a dosé, dans l'extrait alcoolique, ni l'acide sulfocyanhydrique, ni l'ammoniaque, ni les autres bases. Il ne peut par conséquent savoir si l'acide est libre ou combiné à d'autres alcalis.

3. On trouvera des exemples bien étudiés de ces deux cas possibles dans les ouvrages suivants :

Miquel, Fermentation sulfhydrique. *Bull. de la Soc. chimique*, t. XXXII, 1879.

Hoppe-Seyler, Fermentation de la cellulose. *Zeitschr. f. phys. Chemie*, t. X, p. 437.

pas ici de vie physiologique, mais d'un phénomène de fermentation ou de putréfaction des sulfobactéries.

J'insisterai un peu plus sur les expériences de culture sous le microscope faites par M. Olivier. Ce savant a examiné jour par jour des filaments de Beggiatoa, et les a vus perdre leur soufre avec la même rapidité, qu'ils fussent exposés ou non aux vapeurs de chloroforme, ou bien immergés dans de l'eau phéniquée à 4 °/₀ ou dans de la glycérine. La même chose a lieu quand les chambres humides de culture, en présence du chloroforme, sont continuellement traversées par un courant d'hydrogène.

De cette absence d'action des antiseptiques et des anesthésiques, il faudrait évidemment conclure que la vie cellulaire n'est pour rien dans la consommation du soufre, qui disparaît sans être oxydé. Mais je n'ai jamais rien observé de pareil avec des filaments sains de Beggiatoa, et j'ai toujours trouvé que l'acide sulfurique augmentait à mesure que les cellules perdaient leurs granulations. Le chloroforme entrave, il est vrai, la marche du phénomène, mais n'oublions pas que les grains de soufre peuvent disparaître, comme nous l'avons vu plus haut, des cellules mortes, quoique bien plus lentement que des cellules vivantes. Les causes de ce phénomène sont diverses.

1° Si les filaments sont conservés à l'abri de l'air, on voit le soufre disparaître, converti en H^2S par l'action des organismes de putréfaction, qui apparaissent dans le liquide.

2° On voit quelquefois les granulations disparaître, sans qu'il y ait possibilité d'oxydation ou multiplication notable d'organismes étrangers. Cette disparition est, en général, très lente, et il n'y a pas un grand intérêt à chercher la cause d'un phénomène qui n'est plus physiologique. On peut pourtant se rappeler que le soufre, surtout finement divisé comme il l'est dans les granulations, est facilement soluble dans beaucoup de réactifs. Dans les cellules vivantes, il est protégé par le protoplasma, dont la difficile perméabilité a souvent été constatée; mais dans les cellules mortes et à demi désorganisées, les grains de soufre sont plus facilement attaquables, par exemple, par les sulfures alcalins et terreux, qui ne manquent pas dans les liquides contenant de l'hydrogène sulfuré, ou bien par d'autres dissolvants [1].

1. Le soufre est, comme on sait, soluble dans le chloroforme et dans l'éther.

3° J'ai observé encore un phénomène tout différent, qui fait reparaître par une voie purement physique le soufre des cellules mortes. Les granulations sombres des sulfobactéries ne sont pas, je l'ai démontré, du soufre cristallin, ni même solide, mais des gouttelettes d'une consistance huileuse ou molle. Dans les cellules vivantes, la cristallisation n'a jamais lieu, mais si on tue des cellules très riches en soufre, elle commence quelfois immédiatement. Les gouttelettes se réduisent en masses plus grandes, se transforment en cristaux qui quittent les cellules d'une manière ou de l'autre. De longs morceaux de filaments se dégarnissent presque simultanément de leur soufre qu'on retrouve sous forme de cristaux adhérents aux filaments ou dispersés dans le liquide ambiant. Quand M. Olivier a vu, dans ses préparations montées à la glycérine, les « granulations des filaments diminuer de volume et de nombre en même temps que de petits cristaux octaédriques apparaissaient dans le liquide ambiant », c'est sans doute de ce phénomène qu'il s'agissait.

Il est difficile de préciser, dans chaque cas, les vraies causes des faits observés par M. Olivier, mais il est clair que ce savant ne tenait pas un compte suffisant, dans son procédé ou dans son argumentation, de la multiplicité ou de la complexité des phénomènes, ainsi que de la nature particulière des organismes en question.

C'est que leur culture n'est vraiment pas une tâche facile, et exige beaucoup d'expérience. Au début de mes études sur ce sujet, j'ai perdu bien du temps en tâtonnements infructueux, et j'ai, à un moment, considéré comme un grand progrès de maintenir pendant plus de vingt-quatre heures mes Beggiatoa vivants et en bon état dans une culture sur porte-objet. M. de Bary me disait alors qu'il n'avait jamais pu dépasser quelques heures. C'est seulement quand j'ai étudié les manifestations vi-

M. Olivier ne mêlait certainement pas ces deux liquides aux gouttes chargées de filaments sur lesquels il voulait étudier leur action, mais il ne pouvait empêcher les vapeurs de ces réactifs de se condenser dans ces gouttes. Le soufre est également soluble dans le phénol et dans la glycérine. Il l'est, il est vrai, très peu, mais c'est le soufre cristallin qu'on a en vue en parlant, dans les traités de chimie, de la solubilité de ce métalloïde. Les granulations des sulfobactéries sont, en général, beaucoup plus facilement solubles. On n'a, pour s'en convaincre, qu'à comparer l'action lente de l'alcool sur le soufre cristallin, et la rapidité avec laquelle il fait disparaître les granulations intracellulaires.

tales de ces organismes, et trouvé leurs conditions particulières de culture, que j'ai abouti. M. Olivier n'a pas recherché ces conditions, ou, du moins, il ne dit rien de ses efforts. Il s'est encore moins servi des instructions minutieuses données dans mon travail. En traitant les sulfobactéries par l'eau distillée, le phénol, la glycérine, etc., il les croyait capables de supporter ce traitement au moins aussi bien que le supportent d'autres bactériens. Mais il se trompait. Leur force de résistance, vis-à-vis des antiseptiques, n'est pas supérieure à celle de quelques algues vertes délicates, d'une *spirogyra*, par exemple.

Comme M. Olivier n'a pas réussi à cultiver ces organismes microscopiques, il n'a pu étudier leur évolution, ni séparer, par suite, les phénomènes normaux des phénomènes morbides, ni distinguer même un individu vivant d'un individu mort, car quand la mort n'amène pas de changements morphologiques, c'est le développement seul qui, au microscope, est un signe de la vie. Je crois donc pouvoir dire que ses conclusions ne touchent en rien à la physiologie de ces êtres, et n'ébranlent nullement les miennes.

Zurich, 8 janvier 1889.

CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE DU PLÉOMORPHISME DES BACTÉRIENS,

PAR M. EL. METCHNIKOFF.

De toutes les questions concernant la morphologie des microbes, celle du pléomorphisme des bactériens occupe incontestablement un des premiers rangs. On sait que dès le début des études approfondies sur la morphologie de ces organismes, les savants se sont divisés en deux groupes. Les uns, avec M. *Cohn* en tête, admettaient pour les bactéries un cycle de développement fort restreint, et envisageaient les représentants de ce groupe comme des organismes constants de forme ; pour les savants de cette école, les genres (Micrococcus, Bacterium, Bacillus, etc.) acceptés par M. *Cohn* représentaient des groupes naturels et bien délimités, de sorte qu'un Bacillus ne pouvait jamais se transformer en Micrococcus ou en Spirillum. et réciproquement. Les autres savants, avec M. *Nægeli* pour chef, admettaient au contraire un polymorphisme des bactériens presque illimité : les microcoques, bacilles et spirilles pouvaient, d'après eux, se transformer les uns dans les autres, et n'étaient autre chose que les stades d'évolution d'un organisme pléomorphe au plus haut degré.

Pendant que la plupart des pathologistes se déclaraient favorables à l'opinion de M. *Cohn*, plusieurs botanistes distingués se prononcèrent pour la théorie du pléomorphisme. Parmi ces derniers je dois d'abord mentionner le professeur *Cienkowsky*, qui aborda la question d'une manière générale. Après avoir constaté que certaines algues vertes (Stigeoclonium et autres) manifestaient une transformation de leur état filiforme en un amas irrégulier de cellules, réunies par une substance glutineuse et considérées comme appartenant au groupe des Palmellacées. *Cienkowsky* se demanda, si parmi les algues incolores, ou bactériens, il ne trouverait pas des transformations analogues. Des recherches entreprises pour répondre à cette question,

Cienkowsky[1] conclut que les bactéries filiformes, comme les Leptothrix ou Cladothrix, pouvaient donner naissance à des Zoogloea, composées de cellules rondes, ovales ou bacilliformes, réunies en amas par une substance glutineuse. Plus tard, ces résultats furent confirmés et beaucoup élargis par M. *Zopf*[2], qui est devenu parmi les botanistes le principal champion de la théorie du pléomorphisme des bactéries. Il l'appliqua entre autres aux spirilles, qu'il considérait comme des conidies détachées des filaments de Cladothrix.

Les pathologistes, versés dans l'étude des bactéries, s'élevaient vivement contre les théories pléomorphistes des algologues[3], et ce n'est qu'après des recherches longtemps suivies qu'ils acceptèrent ces théories dans un sens plus ou moins limité. Ce fut d'abord M. *Huppe* qui chercha à concilier les contradictions dans son Traité sur les formes des bactéries[4].

Le pléomorphisme fut ainsi accepté par un nombre considérable de savants, et tout récemment encore M. *Koch*[5] fit des concessions en sa faveur. Mais il a subi dernièrement une attaque sensible de la part de M. *Winogradsky*[6], qui dans un travail remarquable sur les bactéries sulfureuses démontra l'inexactitude des résultats obtenus par M. *Zopf*, et chercha à prouver « que jusqu'à présent *il n'a été trouvé aucun cas de pléomorphisme chez les bactéries* » (p. 114).

Considérant que, dans l'état actuel de nos connaissances, il serait utile de recueillir le plus grand nombre de faits capables d'éclaircir la question du pléomorphisme des bactéries en général, je me propose d'exposer ici mes observations sur un parasite des Daphnies, que j'introduis dans la science sous le nom de *Spirobacillus Cienkowskii*, en mémoire de feu le professeur *Cienkowsky*, l'un des champions de la théorie du pléomorphisme.

Dès l'automne de 1885 je remarquais dans les étangs d'O-

1. Mémoires de l'Acad. des Sciences de Saint-Pétersbourg, 1877. Cet intéressant article est peu connu parmi les bactériologistes, comme on peut en juger d'après le fait que M. *Loeffler* ne le cite point dans son Aperçu historique de bactériologie.

2. *Zur Morphologie der Spaltpflanzen*, 1882, et *Die Spaltpilze*, 1885.

3. Voy. surtout *Flügge* dans *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1885.

4. *Die Formen der Bacterien*, 1886.

5. *Die Bekämpfung der Infectionskrankheiten*, 1888.

6. *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bacterien*, Heft I; *Zur Morphoogie und Physiologie der Schwefelbacterien*, 1888.

dessa, peuplés par des millions de *Daphnia magna*, une certaine quantité de ces cladocères qui se distinguaient par leur couleur rouge écarlate. L'observation microscopique de ces exemplaires anomaux m'a démontré aussitôt que la coloration rouge était due au parasitisme d'une bactérie, qui se présentait sous des aspects différents suivant les stades de la maladie de son hôte. Cette coloration intense ne se manifestait pas du reste d'un seul coup, mais apparaissait graduellement. Au début, on ne pouvait apercevoir qu'une accentuation très légère de la coloration jaune clair naturelle à la *Daphnia magna*. Peu à peu cette coloration devenait jaune grisâtre, pour passer au rose faible et prendre ensuite une teinte rouge écarlate de plus en plus prononcée. Toutes ces transformations pouvaient être facilement suivies sur une seule et même Daphnie, qui sous d'autres rapports paraissait bien portante, nageait et prenait sa nourriture comme d'habitude. Parvenu au stade rouge foncé, l'animal continuait encore pendant un ou deux jours cette vie quasi normale; mais au bout de ce terme, les signes de faiblesse se manifestant subitement, la Daphnie mourait couchée sur le côté. La durée de la maladie, dès le premier changement de coloration jusqu'à la fin, était de quatre à cinq jours. Après la mort, la coloration écarlate persistait encore quelque temps, puis elle commençait à perdre son intensité et se changeait en gris rougeâtre plus ou moins pâle.

Tous les changements de coloration, survenus pendant la maladie, correspondaient régulièrement aux différents états de développement du parasite. Au début, chez les Daphnies conservant leur aspect normal presque intact, la cavité du corps contenait des microbes peu nombreux, en forme de cellules ovoïdes plus ou moins allongées (longs de 3 à 5 μ) et ressemblant plutôt à quelques espèces de levures (fig. 1). Cette impression augmentait encore par l'aspect des cellules, réunies par deux, de façon que l'une d'elles paraissait beaucoup plus grande que l'autre. L'observation poursuivie démontrait cependant qu'il ne s'agissait ici nullement d'un bourgeonnement, mais bien d'une division en deux segments inégaux, cas assez fréquent chez les bactéries. A côté de ce mode de scissiparité on pouvait facilement reconnaître la division régulière en deux cellules égales, ce qui constituait la règle aussi pour notre parasite. Si on ne connaissait de ce dernier que cet état de cellules ovales

se multipliant par division transversale, et si on voulait classer notre organisme, il faudrait absolument le ranger parmi les représentants de l'ancien genre Bactérium de M. *Cohn*.

Parvenu dans la cavité générale de la Daphnie, le parasite se multiplie d'une manière très intense, ce que prouvent l'augmentation rapide du nombre des bactéries ainsi que la diminution progressive de leur taille, accompagnée par un changement graduel de forme. Les cellules ovoïdes, après plusieurs divisions répétées, deviennent plus minces qu'au début, rappelant de plus en plus la forme caractéristique des bacilles à bouts arrondis. Ces changements s'opèrent du reste si graduellement qu'il est absolument impossible d'établir une limite quelconque entre la forme du Bactérium et celle du bacille (fig. 2-5). Pour la plupart, ces bactéries conservent leur aspect de bacilles droits ; mais dès les premiers stades de la maladie on aperçoit déjà un petit nombre d'individus quelque peu recourbés en arc (fig. 2, 3, *a*). A mesure que les parasites se multiplient dans le sang de la Daphnie, la quantité de ces bacilles courbes augmente sensiblement et en même temps la courbure de ces derniers devient de plus en plus prononcée (fig. 6). Peu à peu tous les bacilles se recourbent ainsi, et nous obtenons un nouveau stade de notre bactérie, qui se compose d'individus isolés ou réunis en petits groupes de deux, trois individus et plus (fig. 7). Ce groupement, résultant d'une division transversale, conduit à la formation de véritables spirilles qui se présentent d'abord assez épais et comparativement courts (longs de 5 à 8 μ). Mais, comme la prolifération continue avec une activité très grande, les spirilles deviennent de plus en plus longs et minces. Ces transformations peuvent être suivies dans tous leurs détails, d'autant plus qu'il ne manque pas de formes intermédiaires, chez lesquelles un ou deux articles terminaux conservent leurs caractères primitifs, tandis que les autres présentent déjà les modifications mentionnées (fig. 8). Après cet état intermédiaire, tous les parasites, contenus dans la même Daphnie, se transforment en spirilles très minces, en boucles, et ressemblent le plus au *S. volutans* d'*Ehrenberg* [1].

En les observant à l'état vivant, ils se présentent sous forme de corps cylindriques souvent très mobiles, dont la partie

1. *Die Infusionsthierchen*, 1838.

centrale apparaît plus transparente que la périphérie, et ce n'est qu'après une étude à de forts grossissements des préparations colorées par les couleurs d'aniline qu'on peut se faire une idée juste de la composition de la spirale (fig. 9). Les spires des spirillums bien développés sont toujours très resserrées l'une contre l'autre, ce qui rend la forme générale semblable à un cylindre vide. Mais au bout d'un certain temps la distance entre les articles qui composent le spirillum augmente, la spirale se redresse plus ou moins, et nous obtenons des filaments allongés, rappelant les formes spirilliennes de beaucoup de bactéries (fig. 10). Cet état est du reste de courte durée, car les filaments se divisent en fragments plus ou moins courts ; il s'opère peu à peu une dissociation complète des spirales en leurs éléments, formés d'articles recourbés qui rappellent les bacilles courbes, mentionnés plus haut, avec cette différence pourtant, que ces derniers étaient beaucoup plus grands de taille. On peut en juger en comparant les figures 7 et 12 qui représentent les deux formes recourbées de notre bactérie sous le même grossissement (2,020 fois). Quelquefois cette dissolution des spirilles fait encore un pas de plus, parce que les articles isolés provenant des spirales présentent non la forme de bacilles recourbés, mais de corps ovales infiniment petits, rappelant presque des coccus un peu allongés (fig. 11). Dans la période finale de la maladie, nous retrouvons toute la cavité du corps des Daphnies infectées presque entièrement remplie par de petites bactéries très recourbées, très mobiles pendant leur vie. Cet état n'est pas le dernier observé chez le crustacé mentionné, car il est encore suivi par une forme de filaments extrêmement minces, plus épais au milieu et effilés aux extrémités (fig. 13). Ce stade, qui résulte d'un allongement considérable de la petite bactérie recourbée, ne se trouve du reste qu'après la mort de la Daphnie.

Comme il m'était possible de suivre le développement successif de la bactérie parallèlement à la marche progressive de la maladie, j'ai surtout tâché de retrouver chez la première un état de sporulation, qui la rendrait capable de résister après la mise en liberté des parasites, lors de la décomposition des Daphnies mortes. En observant les bacilles droits des premiers stades sur des préparations colorées, j'ai rencontré assez souvent des exemplaires munis d'un certain nombre d'espaces incolores intercalés

entre les segments fortement colorés ; mais on ne pouvait douter qu'il ne s'agissait ici nullement de spores, mais simplement de granulations incolores qui se retrouvent fréquemment chez les différentes bactéries. Je suis beaucoup plus tenté de considérer comme des spores des petits corpuscules brillants et régulièrement sphériques qui se forment à l'une des extrémités des filaments minces, remplissant la cavité du corps des Daphnies mortes (fig. 14). Quoique je doute fort peu de la nature sporifère de ces petites sphères, il m'a été néanmoins impossible de la prouver d'une manière incontestable en constatant leur germination. Je dois noter que, malgré des efforts multipliés, je ne suis parvenu ni à faire pousser le spirobacille dans un milieu nutritif quelconque, ni a observer son passage naturel dans le corps de la Daphnie avec la nourriture ou par un autre procédé. En essayant de cultiver le stade de spirillum dans la gélatine légèrement acidulée, j'ai pu observer un allongement sensible des boucles, mais qui n'a été suivi d'aucun développement plus ou moins actif. J'ai conservé aussi, bien souvent, des Daphnies bien transparentes dans de l'eau qui contenait des milliers de spores, mais ici encore, il m'a été impossible de suivre la marche de l'infection. Le premier stade que je pouvais découvrir était déjà composé par des bactériums ovales et gros, comme ceux que j'ai décrits plus haut. Il reste donc une lacune sensible dans l'histoire du développement de notre bactérie, ainsi que dans celle de la maladie provoquée par elle.

Comme je l'ai déjà mentionné, les transformations du *Spirobacillus Cienkowskii* marchent parallèlement a l'évolution de la maladie, caractérisée par la coloration plus ou moins prononcée des Daphnies. Dans les Daphnies colorées en jaune ou en jaune grisâtre, je ne trouvais que les états bacillaires; l'apparition d'une teinte rougeâtre correspondait à la transformation en spirilles ; les Daphnies franchement rouges contenaient déjà pour la plupart des spirillums en voie de décomposition ou bien des bactéries recourbées et minces. Ce n'est que rarement que la mort de l'hôte survenait au stade du spirillum intact ; ordinairement elle arrivait plus tard, lors de la décomposition des spirales en articles isolés.

On ne peut douter que la coloration des Daphnies atteintes ne soit provoquée par un pigment rouge produit par la bactérie

même et colorant le milieu dans lequel elle pullule. Tant que le nombre des parasites (dans les premiers stades de la maladie) est peu considérable, la quantité de pigment est insuffisante pour donner une coloration prononcée de l'animal entier; mais dès que la multiplication des bactéries atteint son degré maximum, la Daphnie se colore en rouge plus ou moins foncé.

Le parallélisme entre la succession des formes du parasite et la marche progressive de la maladie, ainsi que l'existence abondante de tous les états transitoires entre les différentes formes sous lesquelles apparaît notre Spirobacillus, suffisent déjà pour enlever le moindre doute sur la réalité du pléomorphisme décrit dans cet article. Mais il existe encore un moyen de vérifier l'exactitude des faits annoncés. Ne me contentant pas d'observations répétées sur une même Daphnie malade à travers ses parois transparentes, je faisais à plusieurs reprises de petites saignées à une même Daphnie, et j'arrivais à obtenir ainsi des préparations colorées qui donnaient de beaucoup meilleurs résultats que des observations superficielles sur le vivant. J'ai pu constater ainsi que les bacilles pour la plupart droits, représentés sur la figure 3, étaient transformés au bout de dix-neuf heures en bactéries recourbées et en partie même en spirilles épais, de la figure 7. Les piqûres légères faites pour se procurer une goutte de sang n'occasionnent pas la mort de l'animal, mais guérissent facilement, comme je l'ai indiqué dans mon mémoire sur une maladie des Daphnies, provoquée par une espèce de levures [1].

Dans le *Spirobacillus Cienkowskii* nous voyons donc la succession régulière des états suivants : 1° bactériums ovales; 2° bacilles droits; 3° grands bacilles courbes; 4° spirillums; 5° petits bacilles courbes; 6° filaments minces; 7° spores. On voit bien qu'il s'agit ici d'un véritable pléomorphisme, dont la signification ne peut être contestée. Si on était tenté, en présence de ce fait que dans l'évolution du *Spirobacillus Cienkowskii* il ne se rencontre pas de stade de coccus véritable, de se rallier à la conclusion de M. *Winogradsky*, qu'on ne connaît point de bactéries allongées se transformant en coccus capables de division, on pourrait facilement prouver l'inexactitude d'une pareille supposition. Il existe toute une série de bactéries, qu'on peut désigner avec M. *Biedert* sous le nom de *Coccobacillus*, dans le dévelop-

1. *Archives de Virchow*, V, 96, p. 192.

pement desquelles un stade de filament ou de bacille à pointes arrondies est suivi par un état de coccus véritables, se divisant en deux à la façon ordinaire. Le microbe du choléra des poules, le *Coccobacillus prodigiosus* [1] (le *Micrococcus prodigiosus* des auteurs), la bactérie de la maladie des furets, décrite dernièrement par MM. *Eberth* et *Schimmelbusch* [2], et bien d'autres espèces encore nous présentent des exemples parfaitement établis de pléomorphisme avec un stade de coccus.

EXPLICATION DES FIGURES (Pl. I).

Toutes les figures ont été faites à la chambre claire de Nachet et avec un grossissement de 2,020 fois (Oc. 5 et obj. 1/18 de *Zeiss*),

Fig. 1. *Spirobacillus Cienkowskii.* Stade de bactérium à cellules ovales, pris chez une Daphnie de couleur grisâtre.

Fig. 2. État un peu plus avancé.

Fig. 3. État de bacille, pris chez une Daphnie de couleur gris pâle.

Fig. 4. Bacilles pris chez une Daphnie couleur grisâtre.

Fig. 5. Bacilles plus minces et plus recourbés (*a*), pris chez la même Daphnie, 12 heures après les bacilles de la figure 4.

Fig. 6. Bacilles recourbés, pris chez une autre Daphnie.

Fig. 7. Stade de transformation de bacille en spirille, pris chez la Daphnie de la figure 3, 19 heures plus tard.

Fig. 8. Suite de la transformation en spirilles, d'un autre exemplaire de Daphnie.

Fig. 9. État de spirillum complet.

Fig. 10. Redressement des spirilles et leur désagrégation.

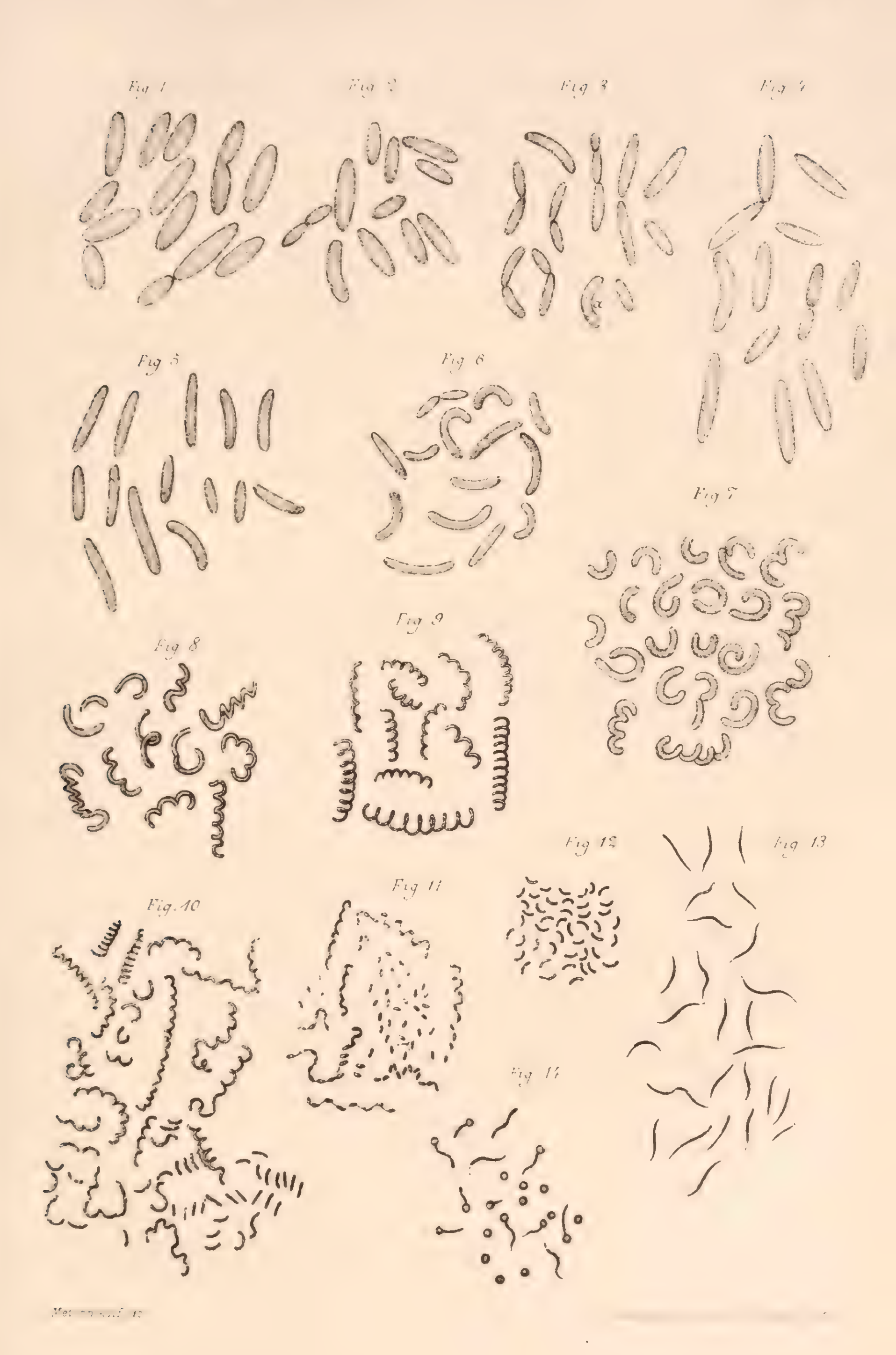
Fig. 11. Désagrégation de spirilles en articles ovoïdes très petits.

Fig. 12. Bacilles recourbés provenant d'une Daphnie rouge.

Fig. 13. État de filaments après la mort de la Daphnie.

Fig. 14. État de sporulation.

1. V. *Wasserzug*, dans ces *Annales*, 1888, p. 75 et 153.
2. *Archives de Virchow*, 1889, N° 2, p. 284, Pl. IX. V. aussi ces *Annales*, t. II, p. 337.


Fig 1
Fig 2
Fig 3
Fig 4
Fig 5
Fig 6
Fig 7
Fig 8
Fig 9
Fig. 10
Fig 11
Fig 12
Fig 13
Fig 14

NOTES DE LABORATOIRE

SUR LA PRÉSENCE DU VIRUS RABIQUE DANS LES NERFS.

Par E. ROUX.

Dans le premier numéro de ces *Annales* pour l'année 1888, nous avons fait connaître le résultat de nos recherches sur l'existence du virus rabique dans les nerfs de personnes qui avaient succombé à la rage[1]. Nos investigations avaient porté sur des individus devenus enragés à la suite de morsures faites à l'un des membres. Si le virus rabique se propage le long des nerfs pour atteindre les centres nerveux, il n'avait pu suivre dans ces cas qu'un trajet bien défini, et on devait le rencontrer dans les troncs nerveux du membre mordu. Mais il ne suffit pas de montrer que le virus rabique existe dans les nerfs du membre blessé, pour conclure qu'il a cheminé le long de ceux-ci à partir de la morsure jusqu'à l'axe cérébro-spinal. On peut, en effet, supposer que, transporté au cerveau ou à la moelle par les voies sanguine ou lymphatique, il s'est étendu aux nerfs en allant du centre vers a périphérie. Pour répondre autant que possible à cette objection, nous avons inoculé par comparaison les nerfs du membre mordu et ceux du membre sain. Dans les cas rapportés dans notre mémoire de 1888, le virus rabique existait à la fois dans les nerfs du membre mordu et dans ceux du membre sain, mais il paraissait plus abondant dans les premiers, puisqu'ils ont donné, plus rapidement que les seconds, la rage aux animaux inoculés.

Depuis, nous avons eu l'occasion de faire de nouveaux examens de nerfs de personnes rabiques dans des circonstances favorables à la solution de cette question, à savoir : quelle voie suit le virus rabique pour aller de la morsure aux centres nerveux ?

1. Voir dans le même numéro de ces *Annales* le mémoire de M. P. Bardach e le mémoire de M. Vestea.

Cas n° 1. — D.-G., âgé de 6 ans, est mordu dans les premiers jours d'octobre 1887, par un chat inconnu qu'il a rencontré dans la rue. La blessure siégeait au pouce gauche près de l'ongle, elle était très légère mais avait donné quelques gouttes de sang. Les parents et l'enfant lui ont donné si peu d'attention qu'ils ne peuvent dire à quelle date précise elle a été faite. Trois semaines environ après la morsure l'enfant devient triste et ne veut plus jouer. Peu à peu son état paraît s'améliorer, et le dimanche 6 février 1888 il est assez gai. Le 7 février, au retour de l'école, il est somnolent et ne veut ni boire ni manger, pendant la nuit il est très agité. Le 8 février, il éprouve de la difficulté à boire et il se plaint de douleurs qui, partant de la main, s'irradient dans le bras, l'épaule et le côté gauche. Le 9 février, l'enfant est conduit à l'Institut Pasteur; il présente de l'aérophobie et de l'hydrophobie; ses pupilles sont dilatées et son regard a une expression singulière. Il a de la faiblesse des jambes, ressent de fréquentes envies d'uriner et d'aller à la selle. L'hyperesthésie de la main gauche est très marquée. Il est conduit à l'hôpital des Enfants-Malades, où il meurt dans la nuit du 13 au 14 février, après 6 jours de maladie déclarée.

L'autopsie est pratiquée le 15 février au matin : on enlève la portion du nerf radial qui se distribue au pouce gauche, sur toute la longueur du doigt, ainsi que les troncs nerveux du bras, au niveau de l'aisselle gauche, sur une étendue de 4 centimètres; on enlève de même le paquet nerveux de l'aisselle droite. On broie à part le nerf radial et ensemble tous les nerfs de l'aisselle du côté mordu avec un peu d'eau stérilisée; on fait de même avec les nerfs de l'aisselle du côté sain. Ces trois émulsions sont inoculées à forte dose, par trépanation, à trois lapins. Le bulbe est inoculé de la même façon à un autre lapin. Voici les résultats de ces inoculations :

Le lapin inoculé avec le bulbe a pris la rage le 15e jour.

Celui inoculé avec les nerfs de l'aisselle du bras mordu était enragé le 35e jour.

Celui qui avait reçu les nerfs de l'aisselle du bras sain était pris de rage le 36e jour.

Enfin, le lapin qui avait reçu, sous la dure-mère, l'émulsion faite avec le nerf radial était bien portant dix mois après l'injection.

Il semble donc que dans le cas de l'enfant D... G..., l'envahissement des nerfs par le virus se soit fait du centre à la péri-

phérie, puisque les nerfs du côté sain se sont montrés aussi virulents que ceux du côté mordu. et que le nerf spécial au pouce blessé ne paraissait pas contenir le virus rabique au moment de la mort. Le malaise éprouvé par l'enfant trois semaines après la morsure correspond probablement au début de la culture dans les centres nerveux. A ce moment on aurait peut-être pu mettre en évidence le virus rabique dans les nerfs du bras mordu, s'il avait été possible de les examiner. Il faut aussi remarquer que la durée de la maladie déclarée a été exceptionnellement longue chez D... (7 jours), et que pendant tout ce temps la culture du virus a pu s'étendre des centres nerveux aux nerfs périphériques, ce qui explique qu'il se trouvait au moment de la mort dans les nerfs des deux bras au niveau de l'aisselle.

Cas n° 2. — Le 9 mars 1888, G. G., garçon boucher, âgé de 22 ans, fut mordu dans la rue par un chien inconnu que l'on abattit à quelque distance de là, parce qu'il mordait d'autres chiens. La morsure faite à G... siégeait à l'éminence hypothénar de la main droite, elle était légère et fut lavée aussitôt chez un pharmacien avec de l'alcool camphré. Peu de jours après elle était cicatrisée. Vers le 5 juin, G..., qui n'avait pris aucune autre précaution, se sentit courbaturé : il était, disait-il, mal en train. Le 10 juin, il se plaignit de douleurs dans l'épaule droite; le 11, malgré un peu d'oppression, il fait son service dans la matinée. A une heure et demie, le même jour, il se met à table et mange, mais il ne peut boire; il quitte alors la table sans répondre aux questions qu'on lui fait. A huit heures du soir, il demande du thé dont il boit une partie; il se plaint de vives douleurs dans le bras droit, il est anxieux et son front est baigné de sueurs. Le 12 juin, G... est beaucoup plus malade, il suffoque et est très excité. Un médecin qui le voit alors pour la première fois, reconnaît la rage et l'envoie à l'Institut Pasteur. Il arrive dans un état d'exaltation extrême, il craint que ceux qui l'ont amené l'abandonnent et il ne veut pas rester seul. Les spasmes sont fréquents, l'hydrophobie et l'aérophobie très marquées, les forces sont conservées et le bras n'est plus douloureux. G.., est conduit à l'Hôtel-Dieu; il meurt le 13 juin à 6 heures du matin.

L'autopsie est faite le 14. Les troncs nerveux du bras mordu. pris au niveau de l'aisselle, servent à inoculer deux lapins par trépanation. Deux lapins sont inoculés de même avec le paquet nerveux de l'aisselle du côté sain. Aucun de ces animaux n'a

pris la rage. Ceux inoculés avec le bulbe étaient enragés au bout de 15 jours [1].

Cas n° 3. — Le nommé C., ouvrier sellier (âgé de 30 ans environ), succombe à la rage du 13 au 14 juillet 1888, à l'Hôtel-Dieu. La famille ne peut dire si C... a été mordu, elle sait seulement que six semaines environ avant sa mort, C... mit sa main droite dans la gueule d'une petite chienne qu'il avait; cette bête était malade, elle avait la mâchoire pendante, et ne pouvait avaler [2]. Croyant qu'elle avait un corps étranger dans la gorge, C. voulut l'en débarrasser. On ne sait s'il avait des blessures à la main ; cependant un habitant de la maison prétend avoir vu C... avec une plaie à la main droite dans le temps où sa chienne était malade. Dans la dernière moitié du mois de juin, le caractère de C... s'était modifié, il était devenu extrêmement affectueux dans sa famille, et se montrait au contraire très irritable à l'atelier. Ceux qui vivaient avec lui avaient aussi remarqué l'expression hagarde de ses yeux. Le 8 juillet, à 3 heures de l'après-midi, il est heurté, au côté droit, par le brancard d'une voiture à bras. Il rentre chez lui très pâle, il se plaint de vives douleurs dans le côté frappé, et refuse de manger. Le 9 et le 10 juillet, il travaille à l'atelier. Le 11 au matin, il boit difficilement, mais se rend cependant au travail ; à 5 heures du soir, il quitte l'atelier à cause des vives douleurs qu'il ressent dans le bras droit, il a aussi un peu de gêne respiratoire. Le 12, l'aérophobie apparaît, et l'hydrophobie est très marquée, l'excitation est extrême : il délire, au point qu'un médecin du quartier, appelé à lui donner des soins, déclare que C... est dans un accès de manie aiguë, et le fait conduire au dépôt de la Préfecture de police, où il arrive le vendredi 13, à 5 heures du soir. Le médecin de service reconnaît aussitôt la rage, et fait transporter le malade à l'Hôtel-Dieu, où il meurt dans la nuit.

A l'autopsie faite le 15 juillet. on enlève le nerf cubital et le

1. A l'autopsie de G., on remarque qu'un des ganglions lymphatiques, de l'aisselle du côté mordu, était volumineux et rouge. Ce ganglion fut enlevé avec précaution, broyé dans un peu d'eau stérilisée. Le liquide trouble ainsi préparé fut injecté sous la peau d'un cobaye. Ce cobaye mourut le 1er juillet avec les symptômes de la rage et sans lésions des organes. Avec son bulbe, on inocula, par trépanation, un second cobaye qui présenta des symptômes rabiques le 19 juillet. Dans plusieurs autopsies de personnes enragées, nous avons trouvé les ganglions lymphatiques, de la racine du membre mordu, rouges et tuméfiés, mais, inoculés, ces ganglions n'ont jamais donné la rage. L'exemple que nous venons de citer est le seul ou nous ayons trouvé le virus rabique dans les glandes lymphatiques.

2. Un chien mordu par la chienne de C... est mort de rage.

nerf médian à la partie moyenne de l'avant-bras du côté mordu. On enlève les mêmes nerfs du côté sain, et on inocule avec chacun de ces troncs nerveux un lapin par trépanation.

Le lapin inoculé avec le nerf cubital du côté mordu a été pris de rage après 50 jours.

Celui inoculé avec le nerf médian du côté mordu était enragé le 19e jour.

Les lapins qui ont été inoculés avec les nerfs du côté sain sont restés bien portants pendant plus de dix mois.

Un lapin inoculé par trépanation avec le bulbe était enragé après 14 jours d'incubation.

Dans ce cas, le virus rabique existait donc dans les nerfs du côté mordu et ne se trouvait pas dans les nerfs du côté sain. Le changement survenu dans le caractère de C..., trois semaines avant l'apparition des symptômes rabiques, indique que c'est sans doute à cette époque qu'a commencé la culture du virus dans les centres nerveux ; il y était parvenu en suivant les nerfs, et cependant les douleurs n'ont été ressenties dans le membre mordu que le 11 juillet, au moment où la rage était déjà confirmée. Le cheminement du virus peut donc se faire le long d'un nerf, pendant un temps plus ou moins long, sans donner lieu à aucun symptôme. Les manifestations rabiques aiguës sont survenues chez C... à la suite d'un coup violent qu'il a reçu. Il n'y a probablement pas autre chose qu'une coïncidence entre le choc subi le 8 juillet et l'apparition de la rage le 10 au soir. Dans les observations de rage [1] on signale fréquemment des cas où l'accès rabique apparaît chez les personnes mordues à la suite d'un accident de ce genre. Ces cas sont trop nombreux pour que l'on n'établisse pas une relation entre l'explosion brusque de la maladie et le traumatisme ou l'émotion dont vient de souffrir l'individu en puissance de rage.

Cas n° 4. — M., soldat, âgé de 23 ans, est mordu à la main droite, par un chien enragé, le 15 février 1888. Ce chien était poursuivi dans la rue, parce qu'il mordait tous les animaux de son espèce qu'il rencontrait. M... traversa le ventre du chien avec son sabre-baïonnette, et cloua l'animal au sol, mais celui-ci en relevant la tête put atteindre sa main droite, et lui fit de nombreuses blessures contuses. Elles furent

1. Gamaleïa, dans ces *Annales*, t. I, p. 63.

touchées avec de l'ammoniaque presque aussitôt, etcautérisées au thermocautère. à l'Hôpital militaire, 1/4 d'heure après avoir été faites. Lorsque M... vint suivre le traitement à l'Institut Pasteur, on compta : 1° au pouce, une forte morsure contuse intéressant la dernière phalange du pouce; 2° cinq morsures à la base du pouce; 3° une morsure sur l'éminence thénar; 4° une morsure ayant traversé l'ongle de l'index et pénétré dans la pulpe du doigt; 5° une plaie à la deuxième phalange du médius; 6° une morsure à la deuxième phalange de l'annulaire, et enfin des coups de dents qui ont pénétré sous les ongles du médius et de l'annulaire.

M... suivit le traitement à l'Institut Pasteur, et retourna à son corps le 5 mars. Peu de temps après, des picotements se firent sentir dans la main mordue, qui était comme engourdie. Puis vinrent une sensation de lourdeur et un affaiblissement de la force musculaire. Ces symptômes restèrent localisés jusqu'au 29 mars. Ce jour, M... éprouva des douleurs très vives dans la main droite, douleurs qui, partant du petit doigt, remontaient dans le membre en suivant le trajet du nerf cubital, et présentant leur maximum au niveau du tiers moyen du bras. D'autre part, il avait de la céphalalgie, une légère agitation, et il ne put pas prendre son repas du soir. Pendant la nuit du 29 au 30 mars, l'agitation augmenta, et le 30 au matin, lorsque M... voulut boire, il ne put le faire à cause des spasmes du pharynx et de la dypsnée causée par le contact de l'eau avec les lèvres. Il se rendit alors à l'hôpital du Val-de-Grâce, où il succomba le 1er avril, à 6 heures du matin, après avoir présenté, avec une grande intensité, tous les symptômes de la rage convulsive [1].

L'autopsie fut pratiquée 27 heures après la mort. Outre la congestion de l'encéphale et l'œdème des méninges, on remarqua que les nerfs du bras droit étaient plus rouges que ceux du bras gauche. On enleva le nerf cubital et le nerf radial au milieu de l'avant-bras mordu, et le paquet nerveux de l'aisselle du même côté. De même, le nerf cubital, le nerf radial et les troncs nerveux de l'aisselle furent pris du côté sain. L'inoculation par trépanation de ces nerfs à des lapins donna les résultats suivants :

Le lapin inoculé avec le cubital du côté mordu prit la rage après 20 jours d'incubation.

Celui inoculé avec le paquet nerveux de l'aisselle du côté mordu devint enragé trois mois et demi après l'inoculation.

1. Ces renseignements sont extraits de l'observation qui m'a été obligeamment communiquée par M. Laveran, professeur au Val-de-Grâce.

Celui inoculé avec le nerf radial du côté mordu resta bien portant, ainsi que ceux qui avaient reçu l'émulsion des nerfs radial et cubital et celle faite avec les troncs nerveux pris au niveau de l'aisselle du côté sain.

Le lapin inoculé avec le bulbe devint enragé après onze jours d'incubation.

Les douleurs éprouvées par M... au début de sa maladie partaient du petit doigt de la main droite pour suivre le trajet du nerf cubital, et c'est en effet dans le nerf cubital que l'on trouve le virus rabique qui n'existe pas dans le nerf radial. Il paraît donc certain que dans ce cas c'est par les blessures faites à l'annulaire que le virus rabique a pénétré, et qu'il s'est propagé le long du cubital pour atteindre les centres nerveux. L'observation clinique et l'expérimentation sont ici tout à fait d'accord.

L'inoculation des nerfs et du bulbe de M... ont donné lieu à d'autres observations intéressantes. On sait que chez le lapin la rage est le plus souvent paralytique, et que c'est par la paralysie du train postérieur que débute en général la maladie. Cette paralysie des pattes de derrière devient de plus en plus complète, puis elle s'étend aux pattes de devant, et pendant plusieurs jours l'animal reste inerte. les muscles respiratoires sont les seuls qui fonctionnent encore. Il est rare d'observer chez le lapin une rage furieuse ou convulsive analogue à celle qui est très fréquente chez l'homme et chez le chien. Dans le nombre si considérable de lapins rabiques que nous avons eu l'occasion d'observer au laboratoire de M. Pasteur, nous n'avons vu de lapins enragés furieux que dans les premiers passages de la rage du chien au lapin. Mais la matière nerveuse de ces lapins, inoculée à d'autres, leur donnait la rage paralytique, et l'on revenait ainsi aux symptômes réguliers de la maladie. Dans les passages d'ordre élevé, la rage convulsive ne se rencontre plus. Dans le nº 5 (1888) de ces *Annales*, M. Helman a publié un mémoire sur la rage furieuse du lapin, rage qu'il a pu entretenir depuis 1885, par passage de lapin à lapin, en lui conservant son caractère [1].

1. M. Högyes a observé 167 fois la rage furieuse sur 476 lapins inoculés. V. le mémoire de M. Högyes, *Le virus rabique des chiens des rues, dans ses passages de lapin à lapin. Ann. de l'Institut Pasteur*, mars 1888.

Après 60 passages les lapins mouraient encore de rage furieuse.

Les lapins inoculés avec le nerf cubital et le bulbe de M... ont été atteints de rage furieuse, l'un après 20 jours, l'autre après 11 jours d'incubation. Cette forme de rage s'est maintenue dans les passages qui ont été faits de lapin à lapin par M. Viala, aide-préparateur au laboratoire. Dans 24 passages successifs, la durée de l'incubation a varié de 11 jours à 8 jours. Les premiers symptômes se manifestaient par de l'inquiétude chez les lapins, qui se tenaient cachés, la tête dans un coin de leur cage ou sous leur litière. De temps en temps ils grattaient le plancher avec fureur et s'élançaient contre les barreaux, ils se jetaient sur une baguette qu'on leur tendait et la mordaient violemment. Ils avaient des accès de convulsions violentes que l'on pouvait provoquer en les excitant, et ils mouraient beaucoup plus rapidement que dans la forme paralytique. La maladie ne durait quelquefois que 24 heures. On avait toujours eu soin d'inoculer deux animaux à chaque passage et de prendre le virus pour le passage suivant sur celui qui était le plus furieux. Dès le 7e passage, on remarquait, en effet, que sur les deux animaux, l'un était moins agité que l'autre, et que des signes de paralysie, se manifestaient dans son train postérieur malgré cette manière de faire [1]. Dès le 22e passage, les lapins présentaient une forme de rage mixte commençant par de l'agitation et des convulsions et finissant par la paralysie. Les animaux du 25e passage étaient nettement paralysés, et chez eux la durée de la rage confirmée était de 5 jours. A partir de ce passage on était revenu à la rage paralytique.

Les lapins inoculés avec le paquet nerveux de l'aisselle du côté mordu prirent rage 3 mois et demi après l'inoculation. Au lieu d'avoir la forme furieuse comme ceux qui avaient reçu le bulbe et le nerf cubital, ils présentèrent d'emblée la rage paralytique. De sorte que deux nerfs différents du même individu donnèrent chacun une des formes de la maladie. C'est une preuve de plus que le virus de la rage paralytique et celui de la rage furieuse ne sont qu'un seul et même virus, et il nous est très difficile de comprendre pourquoi dans quelques cas on obtient une rage furieuse transmissible de lapin à lapin.

1. Précautions recommandées par M. Helman pour maintenir la forme convulsive dans les passages.

Les quatre observations de rage que nous venons de citer montrent que la maladie n'éclate pas brusquement, ainsi qu'on le pense généralement. Lorsqu'on interroge avec soin les personnes qui vivent avec les individus mordus, on apprend presque toujours qu'une période de malaise, parfois fort longue[1], a précédé l'apparition des symptômes rabiques caractéristiques. Cette période de rage latente se rencontre aussi chez les animaux inoculés, ainsi qu'on peut le voir par la lecture des Mémoires de M. Ferré et de M. Högyes[2] qui ont été publiés dans ces *Annales*. Nous-même, nous avons montré que, dès le quatrième jour après l'inoculation intra-cranienne du virus fixe au lapin, on peut retrouver le virus dans le bulbe et la moelle allongée, bien que l'animal paraisse en parfaite santé et que la culture du virus dans les centres nerveux ne se traduise, à ce moment, que par le changement du rythme respiratoire et les variations dans la température signalés par MM. Ferré, Högyes et Babès. Cette période latente est fort utile à connaître chez l'homme, parce qu'elle explique pourquoi le traitement antirabique échoue dans certains cas, quand il est entrepris trop tard ou quand l'incubation de la rage est très courte. Cependant, nous pensons que parfois il est efficace, même entrepris pendant cette période prémonitoire, et nous avons toujours présente à l'esprit l'histoire d'une femme mordue par un chien enragé au côté gauche du nez, qui, après avoir suivi le traitement, ressentit dans ce côté des élancements et des fourmillements, en même temps que la sensibilité de la peau était très émoussée. Elle éprouvait aussi beaucoup d'agitation, particulièrement la nuit; elle revint à l'Institut Pasteur faire part de ces symptômes alarmants ; elle subit un traitement supplémentaire et depuis deux ans elle est en bonne santé.

1. V. Gamaleïa, *l. c.*
2. Ces *Annales*, t. II, p. 137 et 187.

SUR LA CONSERVATION DES MICROBES

Par M. E. DUCLAUX.

L'intérêt de la question du mode et de la durée de la conservation des microbes est double. Au point de vue général, elle nous renseigne sur les conditions dans lesquelles il faut se mettre pour assurer la destruction des germes nuisibles ou la conservation des espèces utiles à nos besoins et à notre industrie. Pour les laboratoires, son intérêt est plus pratique et plus immédiat. Quand il s'agit d'attribuer un nom à une espèce qu'on vient de rencontrer, de la donner comme nouvelle ou de l'identifier avec une espèce connue, il n'y a pas de dessin ou de photographie, si parfaite qu'on la suppose, qui puisse remplacer une comparaison faite sur l'heure, par des ensemencements simultanés dans les mêmes milieux des espèces dont on suppose la similitude, et par l'examen de jour en jour de ces cultures. Je ne dis pas que cette méthode soit sûre, qu'on doive nécessairement séparer deux microbes entre lesquels on relève certaines différences, ni identifier deux êtres qui montrent de la ressemblance. Je dis seulement que cette méthode est une des plus sûres, et même à peu près la seule sûre quand on n'a pas la ressource de l'inoculation sur des êtres vivants.

MM. Soyka et Kräl ont, il est vrai, proposé[1] un moyen d'obtenir des cultures durables, et de constituer à leur aide une sorte de musée bactériologique destiné à fournir des documents dans les laboratoires ou dans les leçons publiques. Ils ont décrit avec détail les moyens de conserver des cultures sur tranches de pommes de terre enfermées dans des récipients cylindriques hermétiquement clos, ou des cultures sur plaque de gélatine ou de gélose dans des flacons plats qu'on ferme avec de la paraffine. Il est clair qu'on protège ainsi une culture contre l'évaporation et contre les impuretés, mais on ne la protège pas contre la vieillesse et les modifications de forme, de couleur et d'aspect

1. *Zeitschrift f. Hygiene*, 1888, p. 143.

qu'elle amène. Il faut toujours, pour l'étude et la comparaison, revenir à la forme jeune, c'est-à-dire à un ensemencement nouveau.

Les cultures en surface sur la gélatine se prêtent mal à cette nécessité d'avoir des semences toujours prêtes. Elles périssent très vite, peut-être à cause de la libre action de l'air et de la lumière, peut-être pour d'autres causes. Toujours est-il qu'il faut les renouveler fréquemment, et que cette besogne est ennuyeuse. Dans mon Traité de microbiologie et dans un mémoire *Sur la durée de la vie des germes de microbes* publié en 1885 [1], j'avais montré que les meilleures garanties de durée étaient la conservation à l'abri de l'air dans un liquide légèrement alcalin, et j'avais proposé, pour la réaliser, la pratique simple qui consiste à aspirer dans de petites ampoules à double effilure les liquides nutritifs dans lesquels les microbes avaient terminé leur évolution. Lorsque ces microbes sont des ferments des matières albuminoïdes, les liquides nutritifs deviennent assez rapidement alcalins. L'ampoule aux 3/4 pleine, on la ferme aux deux extrémités. Il n'y a pas besoin de la stériliser, car si elle est assez fine, ses parois ont été portées au rouge au moment où on l'a fabriquée et fermée à ses deux extrémités. Il suffit de casser les deux effilures flambées avec une petite pince flambée pour pouvoir, en soufflant, introduire dans un nouveau matras la gouttelette de liquide de l'ampoule, sans avoir à craindre, si on ne la vide pas complètement, que l'air qu'on y insuffle apporte dans la partie ensemencée des germes étrangers.

Les plus vieilles des ampoules que j'ai ainsi préparées en y introduisant des germes purs datent aujourd'hui de dix ans, pendant lesquels les ampoules, enfermées dans un tube à essais, sont restées dans des tiroirs rarement ouverts. J'ai pensé à refaire après dix ans, sur elles, l'expérience que j'avais faite après cinq ans dans le mémoire ci-dessus cité, à savoir si elles renfermaient encore des germes vivants.

Elles se partageaient en deux séries. Les unes contenaient les germes de quelques-uns des *Tyrothrix* de mes études sur le lait, c'est-à-dire des êtres que je connaissais bien, et à chacun desquels je pouvais donner son milieu nutritif le plus favorable. Les autres renfermaient des spores de bacilles rencontrés inopi-

1. *Annales de chimie et de physique*, 6e S., t. V.

nément, peu ou pas connus dans leurs propriétés, et recueillis surtout pour devenir plus tard des matériaux d'études qui n'ont pas été faites.

Sur la première série, je peux être très bref, car toutes les espèces que j'avais emmagasinées en 1878 sont restées vivantes après 10 ans. Elles sont au nombre de huit : ce sont les *Tyrothrix tenuis, filiformis, distortus, geniculatus, turgidus, scaber, urocephalum* et *l'Actinobacter polymorphus*.

Pour les deux premiers, je les avais trouvés vivants après 25 ans de séjour dans un ballon scellé contenant une infusion qu'ils avaient peuplée et dont ils avaient peu à peu fait disparaître tout l'oxygène. Les conditions de conservation étaient donc, à très peu près, celles de mes ampoules : il n'y a donc pas à s'étonner de la vitalité de ces deux bacilles après 10 ans ; elle peut probablement durer bien davantage.

Les autres n'avaient pas été éprouvés à ce point de vue. Je les avais trouvés vivants en 1884, après 5 ans. Les voilà arrivés au double de cet âge sans faiblir, car, ensemencés dans un milieu convenable, ils se développent encore en 24 heures.

S'ils étaient pathogènes, il y aurait à se demander si leur virulence persiste. Un mémoire prochain de M. Roux répondra à cette préoccupation.

L'*Actinobacter polymorphus* mérite une mention spéciale. Dans mon mémoire de 1885, j'avais trouvé qu'il était mort après 5 ans dans une culture de lait conservée en ampoules. La semence que j'ai trouvée vivante après 10 ans provenait aussi d'une culture dans le lait. Cette contradiction n'est sans doute qu'apparente, et tient à ce que la réaction terminale d'une culture de ce microbe dans le lait est variable avec la marche variable de la fermentation, qui dépend de la quantité d'air en présence. Le lait peut ou bien rester acide, ou devenir à peu près neutre, ou même alcalin. Tel était le cas dans l'ampoule où la vie avait persisté après 10 ans. Celle ou la semence était morte après 5 ans renfermait sans doute un liquide acide.

J'arrive maintenant à la série d'essais ayant porté sur des bacilles dont je ne connaissais pas bien les propriétés, et auxquels je n'étais pas sûr, malgré la variété des milieux dans lesquels je les ai ensemencés, d'offrir celui qui leur était le plus favorable. J'ai montré, dans le mémoire cité plus haut,

que les conditions de rajeunissement d'un microbe sont beaucoup plus étroites que celles de sa transplantation lorsqu'on le retire d'un milieu où il est bien portant. Il peut alors s'accommoder de liquides nutritifs qui ne conviendraient pas au rajeunissement des spores.

C'est là sans doute ce qui nous explique que sur 8 espèces ensemencées, 2 seulement aient été retrouvées vivantes après 10 ans. Rien ne les distinguant à l'origine de celles que j'ai signalées plus haut et qui sont restées toutes vivantes, il est probable qu'il y avait ici beaucoup de morts apparentes. Je ne voudrais pourtant pas dire qu'elles l'étaient toutes. Il est certain qu'il y a des espèces fragiles, et d'autres qui ne sont pas. Les Tyrothrix que j'ai rencontrés dans les fromages et étudiés, sont très répandus, et ont évidemment pris la solidité d'allures que donne une longue acclimatation dans un même pays et dans un même milieu. Je ne peux pas assurer qu'il en soit de même des autres. Quoi qu'il en soit, on voit que ce mode de conservation dans des liquides soustraits à l'action de l'air assure une longue durée de conservation aux microbes des matières albuminoïdes, et permet d'avoir, pour ainsi dire sans les renouveler, des semences toujours prêtes.

Je dois dire, en terminant, qu'il serait imprudent de généraliser ces conclusions. Les levûres, par exemple, s'accommodent fort mal de la conservation en tubes clos, tandis que je viens de retrouver très vivante une levûre conservée depuis 1873, c'est-à-dire depuis plus de 15 ans, au contact de la bière qu'elle avait produite, dans un grand ballon de verre communiquant avec l'atmosphère extérieure par un tube effilé en col de cygne. Cette bière, qui titre aujourd'hui 3,4 °/₀ d'alcool, contient encore du glucose et de la dextrine, et est restée parfaitement saine. Ceci prouve que les conditions d'une bonne conservation ne sont pas les mêmes pour tous les microbes. Il y a là une étude à faire, qui ne peut pas être improvisée, car le temps est un de ses éléments importants, et que je continuerai, au fur et à mesure que vieilliront, dans mes réserves, les matériaux nécessaires.

REVUES ET ANALYSES

SUR LE ROLE DES MICROBES DANS LA VÉGÉTATION.

REVUE CRITIQUE.

Hellriegel et Wilfarth. Recherches sur la nourriture azotée des graminées et des légumineuses. Annexe au *Zeitschrift des Vereins f. d. Rubenzucker Industrie d. D. R.*, nov. 1888, Berlin, et *Bericht d.* 59e *et* 60e *Versammlung deutsch. Naturforsch. in Wiesbaden*, 1886 et 1887.

Ce n'est pas seulement la médecine que les microbes sont en train de transformer. Voici l'agriculture qui commence à les trouver là où elle ne soupçonnait pas leur présence. Après avoir découvert en eux les grands producteurs de l'acide carbonique qui est l'aliment des plantes vertes, elle a dû leur attribuer le rôle principal dans la fabrication des fumiers, dans la formation de l'humus, dans la production des nitrates et de l'ammoniaque atmosphérique. Elle avait dû toutefois constater dernièrement, avec regret, que de si bons serviteurs faisaient parfois des sottises, et qu'ils présidaient avec une activité fâcheuse au départ, à l'état d'azote gazeux, d'une partie de l'azote organique des fumiers, et plus généralement de celui de la matière vivante. Or, chez l'agriculteur, l'azote gazeux passe pour une non-valeur, et sa production pour une perte sèche. Heureusement pour les microbes, un procès de réhabilitation est commencé, et deux savants allemands, MM. Hellriegel et Wilfarth, s'efforcent de démontrer que le retour de l'azote gazeux à l'état d'azote organique est encore une affaire d'infiniment petits.

Jusqu'où sont-ils arrivés dans cette démonstration ? C'est ce que je voudrais essayer de préciser dans cet article. J'aurais pu parler déjà de cette question, qui est des plus intéressantes au double point de vue théorique et pratique. Les premières publications de M. Hellriegel sur ce sujet datent en effet de 1886. Mais elles étaient incomplètes et incapables d'emporter les convictions. A côté des preuves les plus évidentes d'habileté opératoire, on y trouvait des marques de l'inexpérience des auteurs sur le terrain bactériologique qu'ils étaient conduits à aborder : et des taches qui eussent à peine été remarquées si la thèse

plaidée avait été banale, prenaient tout de suite une grande importance quand on songeait qu'il s'agissait de revêtir des bactéries du rôle nouveau, imprévu et important d'agents d'utilisation de l'azote de l'atmosphère. Mais tout dernièrement MM. Hellriegel et Wilfarth ont publié un mémoire étendu dans lequel ils résument toutes leurs expériences, et qui est fait pour ne pas passer inaperçu. Disons tout de suite qu'on n'y trouve pas, au sujet du point capital qui nous occupe, une de ces expériences topiques sur lesquelles il n'y a rien à redire, qui emportent les convictions, et qu'il suffirait de raconter pour mettre en pleine lumière le rôle nouveau des bactéries. Les savants allemands ont procédé autrement, par une accumulation de faits soigneusement observés, par une discussion serrée des causes d'erreur. C'est une autre manière d'imposer la conviction, mais elle exige plus de longueur dans l'exposé, et plus de patience chez le lecteur. J'essaierai d'abréger en ne prenant dans le mémoire analysé que ce qui est relatif aux migrations de l'azote, et en indiquant la conclusion des expériences sans en citer les données pratiques et numériques, toutes les fois que les résultats me paraîtront indiscutables et bien assis.

MM. Hellriegel et Wilfarth s'étaient proposé dans leur travail de faire pour les grandes plantes de culture ce qu'avait fait pour l'*Aspergillus niger* M. Raulin, dont ils ne prononcent pas le nom, dont ils semblent même ne pas connaître les travaux, mais dont ils reproduisent le programme. Pour juger de l'effet utile d'une substance sur une culture, disent-ils avec raison, il faut remplir deux conditions. La première est que, sur un sol artificiel, dont on connaît bien la composition élémentaire, la plante puisse parcourir jusqu'au bout le cycle de son évolution, et arriver à donner ses fruits. La seconde est que le poids de plante sèche, récoltée dans ces conditions sur une surface donnée, soit assez constant pour que toute modification dans l'accroissement de la plante, survenue à la suite d'un changement quelconque apporté dans les conditions de l'expérience, puisse être rapportée sûrement à l'influence de ce changement.

Il y a une des conditions posées par M. Raulin que MM. Hellriegel et Wilfarth n'ont pas insérée dans leur programme, c'est que le poids de plante type, celui qui sert de comparaison pour les divers essais, soit aussi grand que possible, de façon à ce que tout changement apporté dans les conditions du milieu nutritif se traduise par une diminution de récolte d'autant plus appréciable que le poids de récolte type sera plus élevé. Mais cette condition, ils l'ont en revanche à peu près réalisée dans leurs résultats. Ils sont arrivés en effet à obtenir sur un milieu artificiel, et dans des pots de verre ayant environ 176 centimètres carrés de surface, des poids de 25 grammes de récolte sèche, ce qui représente un rendement égal à celui de belles récoltes industrielles.

Ces vases contiennent les uns 4 kilogrammes, les autres 8 kilogrammes d'un sable quartzeux très pauvre en azote, car on en a trouvé au plus, par la méthode de Kjeldahl, 0gr,0054 par kilogramme, et celui des dernières expériences en contenait moins de 1 milligramme par kilogramme. Il y a en outre des traces impondérables d'acide phosphorique, et de très faibles quantités de potasse, de soude, de chaux, de magnésie et d'acide sulfurique, dont l'origine est à rechercher dans des fragments de feldspath en décomposition, de mica et d'hornblende. Ce sable est mélangé avec une solution nourricière contenant par litre, 0gr,136 de phosphate de potasse, 0gr,075 de chlorure de potassium, 0gr,060 de sulfate de magnésie et des quantités variables de nitrate de chaux. Le mélange en grumeaux est introduit dans les vases, où il repose sur un lit de fragments de quartz lavé qui sert de drainage, et on y implante les graines, après les avoir fait lever entre des doubles de papier à filtre, et avoir choisi celles qui sont à la fois les plus belles et les plus régulières. Pour plus de sûreté, on met sur chaque vase un nombre de plantes double de celui qu'on veut conserver et, au bout de quelques jours, on arrache les moins bien venues, en enlevant en même temps ce qui reste des graines.

Les vases sont laissés à l'air libre, mais peuvent être roulés sous un abri couvert, au moyen d'un wagonnet, dans les cas de pluie ou de vent. Ils sont soumis à des pesées journalières, et chaque jour on remplace par de l'eau distillée privée d'ammoniaque l'eau perdue par évaporation ou transpiration.

Pour abréger, nous n'envisagerons que les expériences dans lesquelles le sol artificiel avait été débarrassé des microbes qu'il renferme d'ordinaire. Pour cela les auteurs portent pendant 2 heures à une température de 150° leur sol artificiel et le quartz qui sert de drainage, placent ensuite le tout, aussi rapidement que possible, dans le vase de verre préalablement lavé avec une solution de sublimé à 1 pour 1,000 et rincé à l'alcool absolu : enfin ils recouvrent le tout avec une couche d'ouate stérilisée. Malgré toutes ces précautions et celle de chauffer d'avance à l'ébullition les solutions nutritives dont on doit imbiber la terre des vases, et l'eau d'arrosage, il est clair que les microbes doivent rapidement reprendre possession du sol. MM. Hellriegel et Wilfarth le reconnaissent du reste, mais, comme nous allons le voir bientôt, ce qu'il y a d'essentiel n'est pas d'éliminer tous les microbes, mais seulement quelques espèces dont ces méthodes suffisent à prévenir l'invasion.

Cela posé, voici les résultats relatifs à l'azote, les seuls dont nous nous occuperons parce que ce sont les seuls qui rentrent dans le cadre de ce journal. Quand, dans ce sol stérilisé, on n'ajoute pas de nitrate, on voit la plante pousser à peu près normalement jusqu'à ce qu'elle

ait épuisé les réserves de sa graine. A ce moment commence pour elle une période de vie pénible, qui dure à peu près aussi longtemps que celle des plantes ayant une nutrition suffisante, et va d'ordinaire jusqu'à la formation du fruit, mais la végétation prend des allures naines; chaque organe nouveau semble se former aux dépens d'un organe ancien, d'une feuille qui s'épuise et se flétrit, et le poids de la récolte sèche est à peine supérieur au poids des graines mises à germer.

L'addition d'un peu de nitrate se traduit alors par une augmentation sensible dans la récolte; celle de 2 millionièmes de nitrate est déjà très sensible, et quand on arrive à $0^{gr},056$ de nitrate dans un vase renfermant 4 kilogrammes de terre, c'est-à-dire à 1 de nitrate pour 70,000 de sol, le poids de la récolte augmente proportionnellement au poids de nitrates, si le reste des aliments est en quantité suffisante. On peut donc, comme l'avait fait M. Raulin, exprimer la valeur nutritive de l'azote des nitrates par un nombre, et dire que l'excès de récolte, produit par l'introduction dans le sol artificiel de 1 milligramme d'azote, est de 93 milligrammes environ pour l'orge, de 96 milligrammes pour l'avoine, de 50 milligrammes pour le pois, etc.

Ces nombres sont évidemment des nombres approximatifs, et ne peuvent guère être autre chose: la plante n'est pas un composé chimique ayant toujours la même constitution, la dose d'azote qu'elle contient varie, etc. Mais quand on voit ces chiffres se reproduire avec leurs valeurs d'une année à l'autre, malgré l'influence variable des conditions météorologiques sur la croissance, le tallage, la maturation des plantes, on ne peut qu'en tirer les inductions les plus favorables au sujet de l'habileté des expérimentateurs, et du soin apporté à leurs expériences.

Cette bonne impression n'est pas à dédaigner, car à côté des faits qui précèdent, on en trouve qui déconcertent. Tout ce que nous venons de dire des cultures en sol stérilisé s'applique également aux céréales, orge, avoine, et aux légumineuses, pois, lupin, sainfoin, etc. Mais si on n'a pas stérilisé, au point de vue des microbes, le sol des vases, les résultats sont très différents pour ces familles végétales. Les graminées ne changent pas d'allures, et continuent à ne donner que des récoltes nulles ou insignifiantes dans les sols où on n'a pas ajouté de nitrates. Mais dans ces sols les légumineuses ont les allures les plus capricieuses. Dans certains vases, elles prennent patron sur les graminées et restent chétives. Dans d'autres, en apparence tout à fait identiques aux premiers, elles prennent un développement exorbitant. D'autres fois, c'est dans le même vase que quelques pieds restent chétifs et que d'autres grandissent et grossissent comme s'ils avaient leur ration de nitrates.

Les pieds qui ont des sorts si différents se ressemblent pourtant

beaucoup à l'origine, et jusqu'au moment où ils ont épuisé les réserves de la graine. A ce moment ils souffrent tous et sont dans un état d'inanition, de *faim d'azote;* chaque nouvelle feuille est plus petite que les précédentes, et à mesure qu'elle se forme, les anciennes se vident et se dessèchent. La tige est grêle, la coloration générale jaunâtre et maladive. Puis, subitement, ou du moins en quelques jours, tout change. La couleur repasse au vert, les folioles de la dernière feuille grandissent et grossissent plus que leurs aînées, le développement reprend vigoureusement, et les hauts des tiges ont souvent un diamètre supérieur à celui de la base, si bien qu'il est non seulement impossible de trouver pour ces plantes, qui semblent vivre de l'air du temps, aucune correspondance entre le poids de plante et le poids d'aliment azoté fourni par le sol, mais encore qu'on trouve à l'analyse, dans ces pieds à l'aspect tout à fait normal, des quantités d'azote organique qui dépassent de plusieurs centaines de milligrammes celles qui existaient à l'origine dans le sol et les graines.

MM. Hellriegel et Wilfarth n'ont pas de peine à montrer que ces résultats, constants chez eux, et qui ont été retrouvés ailleurs, ne peuvent s'expliquer par aucune des hypothèses admises actuellement sur l'origine de l'azote des plantes. On sait, il est vrai, que les légumineuses ont à ce point de vue des propriétés spéciales. On peut tirer d'une terre de belles récoltes de trèfle, de sainfoin, de luzerne, sans lui fournir d'engrais. Ces récoltes emportent deux fois plus d'azote qu'une récolte de blé faite sur la même surface, et cependant, au lieu d'appauvrir le sol, elles l'enrichissent en composés azotés; si bien que, rompues et remplacées par du blé, les légumineuses permettent une belle récolte de céréales sur un sol qui n'a en apparence reçu aucune fumure.

A quelle source empruntent-elles l'azote qu'elles emportent et celui qu'elles laissent dans le sol? La première idée est de la chercher dans l'air. Mais, dans une série d'expériences restées classiques, M. Boussingault avait vu des légumineuses cultivées dans un sol stérilisé, et dans une atmosphère limitée, ou dans un courant d'air absolument dépouillé de ses produits azotés, ne contenir à l'état de plante vivante qu'une quantité d'azote toujours inférieure à celle de la graine, et ces résultats, confirmés par Lawes, Gilbert et Pugh, avaient pris pied dans la science, malgré les contestations de M. G. Ville [1].

Ne trouvant rien de ce côté, on avait attribué aux légumineuses la faculté de tirer un meilleur profit que les autres plantes des traces d'azote combiné qui existent dans l'air, et cela à raison du développement de

1. Il y aurait une étude curieuse à faire, ce serait de reviser avec nos connaissances actuelles et surtout avec les faits nouveaux apportés par MM. Hellriegel et Wilfarth le procès si longtemps pendant et si vivement plaidé entre MM. Boussingault et G. Ville. Mais ce serait sortir du cadre de ce journal.

leurs organes foliacés et de la durée de leur végétation. Mais il y a si peu, dans l'air, de ces combinaisons azotées, et les excédents d'azote, qui ont dépassé parfois 1 gramme par pot, dans les expériences de MM. Hellriegel et Wilfarth, sont tellement considérables, qu'on ne peut songer à invoquer cette origine.

Dans une autre hypothèse, les légumineuses vont simplement puiser dans le sous-sol, à l'aide de leur système radiculaire profond et développé, les matériaux azotés qu'elles ramènent à la surface; mais, font remarquer avec raison MM. Hellriegel et Wilfarth, dans nos expériences, il n'y a pas de sous-sol ; il faut donc renoncer à cette explication.

Reste enfin une explication beaucoup plus complexe, et, il semble, plus difficile à ébranler. La voici. La quantité d'azote existant dans le sol résulte d'un équilibre entre les causes qui l'y introduisent et celles qui l'en font disparaître. Dans les premières, on peut citer l'absorption exercée dans l'air, la chute des poussières atmosphériques, la formation de nitrites par l'évaporation de l'eau, les décharges électriques lentes au voisinage du sol, ou encore la transformation de l'azote de l'air en matière albuminoïde sous l'influence des microbes du sol, comme l'a soutenu dans ces derniers temps M. Berthelot. Au nombre des causes qui font disparaître l'azote du sol, il faut citer les pertes de nitrates par les eaux de drainage, et les procès divers de décomposition de la matière azotée qui tous ont pour résultat, comme l'a montré M. Reiset en 1856, de donner un peu d'azote gazeux qui va se perdre dans l'air.

Eh bien! dans cet ensemble compliqué, le rôle qu'on attribue aux légumineuses, et qui a servi à expliquer leurs propriétés fertilisantes, est de diminuer d'une manière générale les causes de perte, par un mécanisme sur lequel on ne dit rien, et qui semble par là devoir échapper à la discussion. Mais MM. Hellriegel et Wilfarth font pourtant observer que le résultat auquel il conduit est dans tous les cas extérieur à la plante; que, dans cette hypothèse complexe, l'enrichissement d'azote se fait dans le sol, et qu'on ne s'explique pas du tout alors pourquoi toutes les plantes d'un même pot n'ont pas le même sort, et pourquoi les unes prospèrent pendant que les autres dépérissent.

J'abrège, car le mémoire, si intéressant qu'il soit, est long par endroits, et les répétitions y sont fréquentes. Mais nous voici quand même arrivés aux conclusions suivantes. L'une est que la seule source à laquelle les plantes des cultures de MM. Hellriegel et Wilfarth ont pu emprunter leurs notables excédents d'azote est l'azote libre de l'atmosphère; la seconde est que la cause qui préside à cette absorption de l'azote libre ne résiste pas à la stérilisation du sol, puisque

en sol stérile, le poids d'azote du pied de légumineuse étant toujours, comme dans les céréales, inférieur au poids d'azote de la graine, rien n'indique que la plante puise ailleurs son azote. Enfin, la troisième conclusion, la plus curieuse, est que, quelle qu'elle soit, cette cause est en dehors de celles que crée l'emploi des mêmes procédés opératoires, puisque dans des vases traités en apparence de la même façon, le sort des graines est si différent. Il fallait donc chercher ailleurs, et c'est ainsi que MM. Hellriegel et Wilfarth ont été conduits à se demander s'il n'y avait pas là une intervention de microbes.

Pour le savoir, ils ont eu l'idée originale de mélanger à leur sol stérilisé 25^{cc}, ou même moins, du liquide trouble qu'on obtient en mettant en suspension de la bonne terre arable dans cinq fois son poids d'eau distillée, et en décantant après 10 heures. La quantité d'azote qu'apportent dans le sol ces 25^{cc} ne dépasse pas 1 milligramme et est tout à fait négligeable, mais l'effet produit n'en est pas moins marqué. Les exceptions et les irrégularités de croissance disparaissent. Tous les pieds de légumineuses, après avoir passé par la période de faim d'azote que nous avons décrite, reprennent avec ensemble, deviennent très beaux et donnent des excédents notables d'azote.

A quoi est due cette mystérieuse influence qui semble donner, à une plante destinée à rester chétive, la faculté de puiser l'azote dans l'air? L'azote apporté par l'eau de lavage de la terre est hors de cause. On peut d'ailleurs n'ajouter que très peu de cette eau sans rien changer au résultat. Puis cette eau ne donne rien avec les céréales, qui n'en continuent pas moins à périr quand on les laisse sans nitrates. De plus, la délayure de terre perd toutes ses propriétés quand elle a été chauffée une ou deux heures à l'ébullition. Il semble même qu'elle puisse les perdre à 70°. Enfin, les délayures des terres de provenances diverses n'agissent pas de même sur toutes les papilionacées. Celle de deux terres à betteraves a vigoureusement poussé la végétation des pois, tandis qu'elle est restée inerte sur le sainfoin et le lupin. Si nous rapprochons de tous ces faits le souvenir des irrégularités que présentent quelquefois dans leur développement deux pieds de légumineuses cultivés côte à côte dans le même pot, nous verrons que tout concorde admirablement avec l'idée d'une action de microbes, présents quand on les ensemence, mais non pas nécessairement absents quand on ne les ensemence pas.

Voici d'autres faits qui parlent dans le même sens que les précédents, et qui vont nous conduire à faire un pas en avant. Dans un sol stérilisé et dépourvu d'azote, les racines des légumineuses restent grêles, chétives, mais elles sont saines. La plante n'assimile pas d'azote. Dans un sol ensemencé avec de la délayure de terre, et dépourvu d'azote, où la plante prend un développement à peu près normal, les

racines sont couvertes de nodosités de taille variable qu'on retrouve, toutes les fois que la plante peut prendre de l'azote à l'air. Par exemple, dans un sol stérilisé, mais pourvu de nitrates, la plante croît sans présenter de nodosités sur ses racines, mais la récolte contient moins d'azote que n'en renfermaient la graine et le sol au début de l'expérience; il n'y a pas eu d'absorption de l'azote de l'air. Au contraire, dans un sol non stérilisé et pourvu de nitrates, la plante prospère, présente à la récolte un notable excédent d'azote, et ses racines présentent des nodosités.

Nous voici donc conduits à établir une corrélation entre ces trois faits, intervention des microbes, présence des nodosités, et absorption de l'azote atmosphérique. Nous pouvons tout de suite réduire ces faits à deux, en montrant que les nodosités sont produites par des microbes.

D'abord ces nodosités, Brunchorst l'a montré en 1885, renferment une foule de bâtonnets dont on a beaucoup discuté la nature, où les uns ont voulu voir des microbes, les autres des matériaux de réserve de nature albuminoïde et de forme bactéroïde. Il est certain que l'aspect de ces bâtonnets, leur degré de réfringence, la forme arrondie de leurs extrémités, les éloignent un peu des bacilles que nous connaissons le mieux; de plus, ils sont immobiles ou agités seulement du mouvement brownien. Mais, après les avoir bien examinés, je ne puis que me rallier à l'opinion de ceux qui en font des microbes vivants et capables de se reproduire.

Le meilleur argument pour le prouver serait évidemment d'en faire des cultures pures, mais nous ne savons encore personne qui y ait réussi. M. Bréal[1], qui a fait dans ce sens quelques expériences du reste intéressantes, n'opérait pas avec les précautions suffisantes pour pouvoir affirmer que les microbes des nodosités se développaient seuls. On lui doit pourtant l'expérience originale suivante. Ayant piqué une racine de lupin avec une fine aiguille trempée dans le liquide blanchâtre qui remplit les nodosités d'une racine de luzerne et, ayant enraciné ce plant en sol stérile, à côté d'un autre plant de lupin non piqué et du même degré de développement, il a vu la plante piquée pousser beaucoup plus que sa voisine, et quand on l'a arrachée, ses racines étaient très garnies de nodosités, tandis que l'autre n'en portait pas.

MM. Hellriegel et Wilfarth avaient fait, sous une autre forme, une expérience du même ordre. Dans un lot de pois en germination, on choisit une plantule qui, au lieu d'avoir donné une racine pivotante, a développé deux racines latérales; on met cette plantule à cheval sur deux vases placés côte à côte et renfermant tous deux une solution

1. *Annales agronomiques*, t. XIV, p. 481, 1888.

nourricière privée d'azote. Dans l'un on introduit en outre quelques centimètres cubes de délayure de terre, dans l'autre la même quantité de délayure stérilisée par la chaleur. Dans le premier, et dans le premier seul, on voit se développer des nodosités.

Examinées avec la rigueur qu'on est en droit de porter dans l'examen de problèmes aussi délicats, ces deux dernières expériences ne prouvent pas que les nodosités soient l'œuvre des bactéries qu'on y a décrites, mais elles prouvent qu'il y a, soit dans la nodosité piquée dans l'expérience de M. Bréal, soit dans la délayure de terre, une cause animée amenant à la fois la production des nodosités et l'absorption de l'azote atmosphérique. Nous voyons maintenant pourquoi M. Boussingault avait échoué dans la célèbre expérience dans laquelle il avait vu une légumineuse plantée en vase clos, se refuser à prendre de l'azote dans l'air. C'est qu'il avait stérilisé son sol. La preuve, c'est que si on recommence l'expérience, comme l'ont fait MM. Hellriegel et Wilfarth, avec la seule précaution nouvelle de mélanger à ce terrain stérile de culture un peu de délayure de terre, on trouve de tout autres résultats.

L'expérience est trop longue et trop touffue pour que je la rapporte dans tous les détails.

Elle revient, en somme, à faire pousser une plante dans une grande bonbonne de verre hermétiquement close pendant la durée de l'expérience, sauf pendant les intervalles de temps, très courts, nécessaires pour faire passer dans la bonbonne les rations d'acide carbonique nécessaires à la légumineuse en voie de croissance. On réduit ainsi au minimum toutes les sources d'azote, connues ou inconnues, autres que l'air du vase, et quand la plante en absorbe beaucoup, il faut bien admettre qu'elle l'a puisé dans l'air.

Il n'eut sans doute pas été difficile à MM. Hellriegel et Wilfarth d'établir sur ces données une expérience topique comme celle dont nous regrettions l'absence, au début de cet exposé. Celle qu'ils ont faite est devenue compliquée parce que le dispositif expérimental était trop simple. L'évaluation du gain d'azote exige une discussion serrée des causes d'erreur dans lesquelles on peut toujours craindre qu'il ne s'en soit glissé une inconnue jusqu'ici. Mais comme ce gain d'azote s'élève, suivant les cas, à 100, 200 milligrammes et même plus, comme les photographies jointes au mémoire témoignent que la plante prend un développement très grand, on ne peut que se rendre à l'évidence, tout en regrettant qu'un dosage de l'azote total de l'air de la bonbonne au commencement et à la fin, ne soit pas venu fournir une contre-épreuve, peut-être nécessaire pour l'établisement d'une proposition si neuve et si hardie.

Résumons maintenant avec MM. Hellriegel et Wilfarth les conclusions de ce long et intéressant mémoire :

« 1° Les légumineuses sont foncièrement différentes des graminées quant à leur nutrition azotée.

« 2° Les graminées ne peuvent s'adresser pour cela qu'aux combinaisons azotées assimilables du sol, et leur développement est toujours en rapport direct avec la réserve d'azote disponible dans le sol.

« 3° Les légumineuses ont en outre à leur disposition une deuxième source d'azote à laquelle elles peuvent emprunter pour compléter leur provision lorsque la première est insuffisante.

« 4° Cette seconde source est l'azote libre de l'atmosphère.

« 5° Les légumineuses n'ont pas par elles-mêmes la faculté de puiser à cette source, elles ont besoin pour cela du concours de micro-organismes vivants présents dans le sol.

« 6° Tous les organismes inférieurs ne sont pas capables d'amener ce résultat, il faut une association symbiotique de certaines espèces d'entre eux avec certaines espèces de légumineuses.

« 7° Les nodosités des racines de légumineuses ne sont pas des magasins de matériaux de réserve albuminoïdes, mais sont en relation de cause à effet avec l'assimilation de l'azote libre. »

Là le mémoire s'arrête, et le lecteur en est un peu décontenancé. Quoi ! Pas un mot sur le mécanisme de formation de ces nodosités; rien sur le mécanisme qui permet à ces microbes de faire de la matière albuminoïde avec l'azote de l'air! Mais il y a là le germe d'une révolution dans l'économie générale du monde ! S'il y a de pareils êtres, nous avons tout avantage à les connaître, à les cultiver, à élargir leur champ d'action, à les aider dans leur lutte pour l'existence, à leur demander plus que ce qu'ils font en ce moment-ci, et à les employer en grand, pour tranformer en matière alimentaire cet azote de l'air, qui constitue la forme moderne du supplice de Tantale. C'est cet azote qui fait la cherté des aliments, qu'arriverait-il si nous pouvions le puiser directement ou indirectement dans l'air?

L'intérêt n'est pas moins grand au point de vue théorique. Tous les microbes connus sont des destructeurs de matière. Ceux-ci seraient des constructeurs. Comment expliquer cette différence? Sans vouloir essayer de répondre à cette question, je voudrais la préciser en terminant, car sous cette forme, qui est sa forme vulgaire, elle risque d'être mal comprise. En réalité les microbes sont toujours à la fois constructeurs de matière vivante, et destructeurs de matière organisée. Quand l'Aspergillus niger de M. Raulin vit dans une solution de sucre additionnée de sels minéraux, il édifie des cellules nouvelles avec leur constitution complexe, en même temps qu'il détruit le sucre qu'on lui donne pour aliment, et l'un des travaux est la rançon de l'autre. La

matière albuminoïde qu'on trouve dans les tissus de la plante, quand la végétation est terminée, s'est faite aux dépens du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène du sucre, aux dépens de l'azote des sels ammoniacaux qu'on a été obligé d'ajouter au liquide nutritif; mais cette matière albuminoïde n'a pu se créer de toutes pièces que parce qu'une partie plus ou moins considérable du sucre a descendu l'échelle de destruction organique, et a laissé ainsi de la chaleur convertible en travail physiologique.

De même on a le droit de croire jusqu'ici (et cette idée réduit notablement les brillantes perspectives que nous faisions entrevoir tout à l'heure) que les bactéries qui font de la matière albuminoïde avec l'azote de l'air ne peuvent arriver à ce résultat qu'en consommant et détruisant une matière hydro-carbonée déjà formée. C'est ici qu'apparaît la symbiose entre ces bactéries et une plante déjà formée, cette plante grêle qui s'est produite aux dépens des matériaux de la graine. La période d'hésitation, d'incertitude, de chlorose, que nous avons signalée, correspond peut-être à cet établissement de la symbiose, au premier développement sur les racines de ces nodosités qu'on n'observe pas en effet dans la réalité avant ce moment, et dont l'établissement, si notre idée est vraie, doit être accompagné d'une période de souffrance pendant laquelle la plante, fournissant à la vie des microbes avant d'avoir pu profiter de leurs produits, arrive péniblement au moment où les deux espèces symbiotiques profitent également et largement de leur rapprochement. Tous les faits si curieux découverts par MM. Hellriegel et Wilfarth s'expliquent bien dans cette manière de voir. On comprend pourquoi les associations ne se font pas d'une façon quelconque, mais pourquoi chaque espèce de légumineuses a pour ainsi dire ses commensaux. On comprend aussi pourquoi les légumineuses peuvent se comporter autrement que les céréales, ou du moins le fait n'est pas plus inexplicable que l'apparition des Orobanches, par exemple, sur les racines de certaines plantes et pas sur d'autres. Ce sont des questions de nutrition avec lesquelles nous a depuis longtemps familiarisés l'étude des infiniment petits. Il ne resterait plus alors, pour séparer ces microbes des nodosités des légumineuses de tous les autres connus, que leur faculté de s'adresser à l'azote de l'air, et non plus à des nitrates ou à des sels ammonicaux. Il est vrai que cette différence, si elle est peu importante en théorie, est considérable dans la pratique. Elle renverse toutes les notions que nous croyions avoir sur l'indifférence olympienne de l'azote gazeux, et de ce fait le mémoire de MM. Hellriegel et Wilfarth peut être considéré comme un des plus importants travaux qui aient paru depuis la naissance de la chimie agricole.

Dx.

Stschastny. Sur les relations entre les bacilles de la tuberculose et les cellules. *Archives de Virchow*, 1889, p. 108.

Le mémoire de M. Stschastny, sans présenter rien de bien original ni de bien nouveau sur l'anatomie pathologique de la tuberculose, mérite cependant d'être lu avec attention.

L'auteur y fait une étude consciencieuse de coupes d'organes tuberculeux du spermophile, du moineau et de la poule. Il ne donne aucun renseignement sur la durée de la maladie des sujets. Sont-ils morts spontanément, ou ont-ils été sacrifiés après un temps déterminé? Il n'est pas inutile de connaître ces détails, car nous savons que le tubercule n'a pas toujours la même structure suivant le moment où on l'examine. Les cellules épithélioïdes et les cellules géantes se forment à des époques déterminées, et pour bien comprendre leur mode de formation, il ne suffit pas de prendre un animal tuberculeux au hasard, mais il faut choisir avec soin ses sujets et les sacrifier à époques déterminées.

Si M. Stschastny avait suivi cette méthode, il aurait pu affirmer plus catégoriquement bien des points qu'il ne fait que présumer, et l'intérêt de son mémoire y aurait gagné.

L'étude de la formation des cellules géantes chez le spermophile, la poule et le moineau est faite avec soin dans le travail qui nous occupe. Nous croyons avec M. Stschastny que le mode de formation des cellules géantes n'est pas toujours le même. Il pense que chez le spermophile elles proviennent d'une cellule-mère dont le noyau se multiplie, tandis que chez la poule elles résultent de la fusion de plusieurs cellules en une seule. Chez le moineau, dit-il, la rapidité de l'infection ne permet pas aux cellules géantes de se former.

L'auteur n'attribue pas aux cellules conjonctives le grand rôle dans la formation du tubercule tel que l'a décrit M. Baumgarten. Ici encore, nous sommes d'accord avec lui. Les cellules qui forment la granulation tuberculeuse sont des cellules migratrices. Ce sont elles qui prennent les bacilles, au lieu que ce soient les bacilles qui pénetrent dans leur intérieur; elles les transportent grâce à la circulation lymphatique et sanguine dans les diverses organes et donnent ainsi lieu à la généralisation de la maladie.

Dans le foie, les cellules hépatiques ne paraissent concourir que très secondairement à la formation du tubercule. L'auteur ne les a jamais vues en voie de division et n'en a pas trouvé qui renfermassent des bacilles.

Enfin M. Stschastny termine en nous disant quelques mots sur la

destruction des bacilles par les cellules géantes. C'est chez le spermophile qu'il a observé ce phénomène, au sujet duquel il est d'accord avec M. Metchnikoff. Mais est-ce là l'unique mode de destruction des bacilles dans l'organisme? Nous ne le croyons pas quoique l'auteur semble avoir cette opinion. Dans les tubercules caséeux, les bacilles naissent et meurent en des points où l'on n'observe plus aucun élément cellulaire. Les leucocytes, eux-mêmes, sans être agglutinés en cellules géantes, contiennent souvent dans les tubercules du cobaye des bacilles granuleux et ne se colorant plus bien.

Dr Yersin.

Rapport sur les expériences faites pour démontrer l'efficacité de la vaccination charbonneuse de M. Pasteur contre le *Cumberland disease. Assemblée législative de la Nouvelle-Galles du Sud, Sydney*, 1888.

De l'identité constatée par MM. Loir, Germond et Hinds (voir ces *Annales*, t. II, p. 511), entre le *Cumberland disease* d'Australie et le charbon, on pouvait conclure à l'efficacité de la vaccination charbonnense contre cette maladie. C'est cette efficacité que MM. Loir et Germond viennent de démontrer par une expérience publique, faite sur le même programme que celle de Pouilly-le-Fort, et dans laquelle 20 moutons et 4 vaches vaccinées ont résisté à l'inoculation d'un sang charbonneux, qui a tué 19 moutons non vaccinés, sur 19 qui l'avaient reçu, et, sur deux vaches non vaccinées, en a tué une, et a rendu l'autre très malade.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées ayant succombé à la rage.

Druaux (Blanche), 15 ans, d'Aubervilliers (Seine). Mordue le 7 janvier 1889 à la joue gauche, à 3 centimètres au-dessous de l'œil. Les dents ont fait deux plaies longues de 8 millimètres, et ayant un peu saigné. Autour la joue est meurtrie. Les morsures ont été lavées à l'arnica 5 minutes après qu'elles ont été faites. L'animal mordeur est un chien qui a été abattu par M. Coret, vétérinaire à Aubervilliers, qui l'a déclaré enragé.

Traitée du 9 au 28 janvier, Druaux devient malade le 6 février, elle se plaint de maux de tête, elle est conduite le 7 à l'hôpital Lariboisière. Les symptômes de la rage convulsive confirmée se montrent le 9 février; elle meurt le 11 février. La rage s'est déclarée 9 jours après le traitement.

Dufour (Jean-Louis), 72 ans, de Veyras (Ardèche). Mordu le 23 décembre 1888 : 1° à la main droite qui porte onze blessures sur la face dorsale, cinq sont profondes; 2° une morsure sur la face dorsale du médius; 3° une morsure sur la face dorsale du petit doigt; 4° cinq morsures sur la face dorsale du poignet droit, elles ont été faites à nu; 5° à la face postérieure de l'avant-bras, dans la portion médiane, cinq morsures, la manche de la veste a été traversée.

Toutes ces blessures, au nombre de vingt-trois, ont donné du sang, et ont traversé toute l'épaisseur de la peau. Plusieurs sont plus profondes. La main est très gonflée. Ces plaies ont été lavées à l'eau sédative, elles ne présentent pas de traces de cautérisation. Dufour a été traité du 25 décembre 1888 au 12 janvier 1889.

Le docteur Merlet, de Privas, donne sur Dufour les renseignements suivants :

« Depuis l'époque de ses blessures, et durant tout le temps du traitement qu'il a subi à l'Institut Pasteur, cet homme était hanté constamment par des cauchemars et des hallucinations. Le 9 février, apparurent soudain, après le repas, des spasmes œsophagiens, accompagnés d'hydrophobie. En même temps, il présentait quelques phénomènes douloureux au niveau de son avant-bras mordu. Appelé à le voir, je diagnostiquai la rage. Dans la nuit du 12 au 13 sont survenus des symptômes violents, du délire, des accès de fureur; le malade a cherché à mordre son entourage, et se déchirait le bras malade avec ses ongles. Il avait de l'hypéresthésie sensorielle, craignait la lumière, et saisissait le moindre bruit, etc. Il meurt, le 13 février, à 1 heure du soir. »

La tête du chien mordeur a été envoyée à l'Institut Pasteur, le 31 décembre. Les animaux inoculés avec le bulbe étaient enragés le 19 janvier 1889.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE [1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — JANVIER 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	**2**	**7**	»	**2**	**7**	»	**2**	**2**
Morsures à la tête et à la figure — multiples	»	**5**		»	**5**		»	»	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	3	»	»	2	»	»	0	»	»
Pas de cautérisation	4	»	»	5	»	»	1	»	»
Morsures aux mains — simples	»	**8**	**15**	»	**31**	**59**	»	**2**	**11**
Morsures aux mains — multiples	»	**7**		»	**28**		»	**9**	
Cautérisations efficaces	3	»	»	1	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	3	»	»	21	»	»	3	»	»
Pas de cautérisation	9	»	»	37	»	»	7	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	**4**	**8**	»	**6**	**20**	»	**3**	**9**
Morsures aux membres et au tronc — multiples	»	**4**		»	**14**		»	**6**	
Cautérisations efficaces	2	»	»	»	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	4	»	»	6	»	»	2	»	»
Pas de cautérisation	2	»	»	14	»	»	6	»	»
Habits déchirés	7	»	»	19	»	»	8	»	»
Morsures à nu	1	»	»	1	»	»	1	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	**2**	**2**	»	**2**	**2**	»	»	»
Cautérisations efficaces	»		»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	1	»	»	1	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	1	»	»	»	»	»
Habits déchirés	1	»	»	1	»	»	»	»	»
Morsures à nu	1	»	»	1	»	»	»	»	»
Totaux. Français et Algériens	..	21	**32**	..	82	**88**	..	21	**22**
Totaux. Etrangers	..	11		..	6		..	1	
	A			B			C		
TOTAL GÉNÉRAL				**142**					

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement ; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 133 fois ; chats, 6 fois ; bœuf, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. MARS 1889. N° 3

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR LA NUTRITION INTRACELLULAIRE

Par M. E. DUCLAUX.

Si le mot aliment est facile à définir grammaticalement, il n'en est plus de même quand on se place au point de vue physiologique. On voit bien en gros qu'on a le droit d'appeler de ce nom toute substance qui entretient la vie des tissus, et peut servir à leur accroissement; mais, quand on entre dans le détail, les obscurités commencent : il y a animal et animal, tissu et tissu, et il n'est pas démontré que les aliments qui servent à la croissance soient identiques aux aliments d'entretien. Un enfant qu'on nourrirait de viande supporterait aussi difficilement ce régime qu'un soldat qu'on nourrirait de lait.

Cherche-t-on, pour éviter ces difficultés, une définition de l'aliment en lui-même, on rencontre la distinction classique des aliments en aliments respiratoires, destinés à être brûlés, à entretenir ainsi la chaleur corporelle, et comprenant les sucres, les corps gras et en général les substances ternaires; et en aliments plastiques, destinés à réparer les pertes des tissus et à entrer au moins temporairement dans leur constitution. Ces derniers sont exclusivement des substances azotées.

Mais classifier n'est pas définir. Cette classification semble d'ailleurs tout à fait arbitraire. C'est une idée enfantine que de

se représenter la cellule vivante comme se nourrissant par intussusception des aliments plastiques, et se chauffant à la chaleur produite en dehors d'elle par les autres, comme nous nous chauffons devant une cheminée. Parmi les nombreux services que l'étude des levures, faite par M. Pasteur, a rendus à la science, il faut compter celui de nous avoir montré deux choses : la première, c'est que la transformation et la consommation du sucre sont un phénomène intracellulaire ; la seconde, qu'il peut y avoir de la chaleur produite et de l'acide carbonique dégagé en dehors de toute intervention de l'oxygène, et que par conséquent on n'a pas le droit de considérer comme solidaires et de réunir par un lien indissoluble les deux phénomènes du maintien de la chaleur animale et de la respiration. Entre les deux, il peut y avoir des intermédiaires utiles à envisager.

Il est d'ailleurs chimérique d'essayer de définir l'aliment en lui-même, en dehors de l'animal, du tissu ou de la cellule qui l'utilisent. Cherchons d'abord au regard de l'animal. On peut appeler, et on a en effet appelé aliment d'une espèce animale, toutes les substances qui, introduites dans l'organisme, s'y détruisent ou s'y transforment, de façon à ne pas reparaître en nature dans les excrétions ou les sécrétions. C'est ainsi, par exemple, que la cellulose de la paille est alimentaire pour le cheval et ne l'est pas pour l'homme. Mais cette définition est à la fois trop large et trop étroite ; trop large en ce qu'elle décerne la qualité alimentaire à des substances que l'organisme détruit en vertu de ses forces actives, mais sans en tirer profit, absolument comme un moulin broie les grains de sable qui lui arrivent en même temps que le blé ; trop étroite en ce que par exemple, d'après elle, le sel marin ne serait pas un aliment, parce qu'il s'élimine par les urines en quantités à peu près équivalentes à celles qui pénètrent dans le corps. Je prends cet exemple, parce qu'il a l'avantage de réveiller une idée de réserves alimentaires, idée que nous retrouverons tout à l'heure.

Il y a en outre une objection plus grave, c'est que dans cette définition, la qualité alimentaire dépend du mode de pénétration dans l'organisme. Le saccharose, le lactose, injectés dans les veines d'un chien, se retrouvent en totalité dans les urines. Ils ne reparaissent plus, quand on les fait arriver par la veine porte ou qu'ils passent tout simplement par le tube digestif. Ceci nous

conduit à pénétrer dans le détail de cet ensemble complexe qui constitue un être vivant, et à envisager non plus l'animal, mais le tissu, puisque les divers tissus d'un même animal peuvent avoir des propriétés diverses.

Mais pour arriver là, et même pour pousser plus loin (car il est clair que nous ne pourrons pas nous arrêter au tissu et qu'il faudra en venir à la cellule), il faudrait pouvoir suivre l'aliment dans son transit au travers de l'appareil digestif et de l'appareil circulatoire. C'est ce que nous ne savons faire que d'une façon très incomplète. L'enseignement le plus général et le plus sûr que nous fournisse la science à ce sujet est que l'aliment ne se présente pas d'ordinaire devant la cellule sous l'état dans lequel il a été ingéré. Pour pouvoir devenir nutritif, il a d'ordinaire besoin de subir une transformation préalable.

Il y a là évidemment plus qu'un hasard, il y a une nécessité. Tout principe alimentaire, en dehors des substances minérales, étant un produit de vie cellulaire, doit, du moment qu'il existe, avoir eu les moyens d'échapper à la consommation de la cellule qui l'a produit, être devenu inattaquable pour elle, soit qu'il fasse partie de ses éléments constituants, soit qu'il forme dans son intérieur une réserve destinée à servir à des besoins ultérieurs. Il jouit donc, du moment qu'il existe, d'une certaine stabilité, stabilité relative bien entendu, qui n'existe qu'à l'égard des conditions dans lesquelles il s'est formé, mais qui n'en est pas moins réelle, et qui, l'ayant protégé contre l'action d'une certaine espèce de cellules, le protégera aussi contre l'action d'autres cellules, s'il arrive, comme l'expérience le démontre, que le nombre des modes de vie cellulaire est inférieur au nombre des matières alimentaires fournies par le règne végétal ou par le règne animal.

Cette stabilité relative peut s'effacer sous l'influence de causes bien diverses. Il suffira quelquefois d'un changement dans la réaction du milieu : c'est ainsi que le glucose qui résiste bien à l'oxydation dans un milieu acide, se détruit assez facilement dans un milieu alcalin. Le plus souvent, c'est l'action d'une diastase qui confère la qualité nutritive à une matière alimentaire. C'est ainsi, et seulement ainsi, que le saccharose et l'amidon entrent dans la consommation protoplasmique, aussi bien chez les animaux supérieurs que dans le monde des infiniment petits.

Je sais bien que cela a été contesté et qu'on a fait valoir par

exemple le cas de ces levures qui consomment le sucre d'une liqueur, sans jamais donner à celle-ci le pouvoir de réduire le réactif de Fehling. Mais c'est faute de s'entendre et de bien poser la question. On connaît des levures qui produisent beaucoup de diastase, et la laissent se diffuser dans le liquide ambiant, en quantités assez grandes pour qu'il s'y produise plus de glucose que les levures n'en demandent pour leur consommation journalière. Ces levures se font ainsi autour d'elles des greniers d'abondance. Chez d'autres levures, à diastase moins abondante ou moins diffusible, ces greniers sont moins pleins, et on arrive ainsi jusqu'à celles qui ne s'en font plus du tout, sans qu'on ait le droit de supposer que, pour elles, les conditions de vie protoplasmique soient autres que chez leurs congénères.

Si je rappelle maintenant qu'il n'y a, au point de vue de la nutrition, aucune ligne de démarcation entre les cellules des microbes et celles des animaux supérieurs, que partout les mêmes matières alimentaires sont rendues nutritives par les mêmes diastases, servent à des élaborations toutes pareilles, et fournissent les mêmes produits dont les uns entrent dans la construction de l'édifice cellulaire et les autres sont rejetés, on voit que les microbes nous fourniront un terrain excellent pour l'étude de la nutrition intime de la cellule, puisque avec eux cette cellule pourra être mise directement en présence de l'aliment, sans les intermédiaires obscurs par lesquels il faut passer chez les animaux supérieurs.

L'étude des levures, dont j'ai dit un mot plus haut, nous a déjà donné à ce sujet beaucoup de notions importantes que le travail ci-joint de M. Laurent augmente largement, mais son champ est borné, parce que la levure ferment n'est pas une espèce facilement *polyphage*. Quand on lui donne autre chose que les sucres qu'elle aime, sa vie est pénible; elle perd son rôle de ferment. Elle se contente de brûler les autres aliments à l'aide de l'oxygène qui lui arrive dans les profondeurs du liquide, ou elle les laisse inaltérés. Pour pouvoir varier davantage la nature de l'alimentation chez une espèce vivante, il vaut mieux s'adresser aux mucédinées, qui sont beaucoup moins difficiles sur le choix de leurs aliments nutritifs, et parmi celles-ci, les plus commodes sont l'*Aspergillus niger* étudié par M. Raulin et le *Penicillium glaucum* vulgaire.

Avec le premier, on a l'avantage de s'adresser à un être dont on connaît admirablement, en nature et en quantité, les aliments minéraux. Si donc, dans le liquide classique que M. Raulin nous a appris à composer pour lui, on remplace le sucre par une autre substance ternaire, on peut être sûr que la plante aura par ailleurs tout ce qui lui est nécessaire pour vivre, et que les modifications qu'elle subira par le fait de ce changement pourront être exclusivement rapportées au changement de la matière alimentaire. La nutrition minérale du *Penicillium glaucum* est moins bien connue; mais je me suis assuré qu'en additionnant le liquide Raulin de quelques millièmes de chlorure de calcium, on le rendait très propre à la culture de la plante, qui a d'ailleurs l'avantage d'être plus robuste que l'*Aspergillus niger*, et beaucoup plus accommodante comme nutrition.

Qu'il s'agisse de l'une ou de l'autre, quand elles sont en milieu favorable et qu'elles poussent bien, elles se défendent si victorieusement, elles et le liquide sous-jacent, contre l'immixtion des espèces étrangères, qu'on peut les cultiver à l'air, dans des cuvettes de porcelaine où l'air a large accès, sans craindre aucune impureté. Mais quand l'aliment hydrocarboné qu'on leur offre est moins bien approprié, il faut entourer leur culture de quelques précautions. Ce que j'ai trouvé de plus simple est de les cultiver sur un de ces vases de Bohême, à fond plat et à large goulot, qu'on trouve maintenant dans le commerce. On y introduit le liquide, et on le ferme par un bouchon d'ouate lâche. Pour pouvoir procéder de temps en temps à l'étude du liquide, on fait passer au travers du bouchon d'ouate un siphon à deux branches égales, effilées à leurs deux extrémités. On stérilise alors le tout à l'autoclave. On ensemence à la façon ordinaire, avec un fil de platine qu'on a promené dans une touffe jeune de fructification de la plante à étudier, et on porte à l'étuve, l'extrémité intérieure du siphon plongeant dans le liquide. Quand le premier développement est terminé, on soulève un peu le siphon et on s'en sert pour faire passer dans le vase un lent courant d'air, si on juge que l'activité de la végétation le demande. Pour puiser du liquide, il suffit d'enfoncer le siphon au travers de l'ouverture que le mycélium a laissée libre en se feutrant autour de lui, et d'aspirer avec précaution au moyen d'un court tube de caoutchouc.

I. — SACCHAROSE.

Le saccharose est l'aliment par excellence de l'*Aspergillus niger*, celui qui lui donne son développement le plus rapide, le plus abondant, le plus régulier et le plus complet. Le mycélium est très feutré, les filaments conidiens longs et érigés, le renflement terminal se couvre de rameaux verticillés qui, eux-mêmes, se ramifient et se terminent par un nouveau verticille de ramuscules, dont chacun porte un long chapelet de spores noires, dont la figure 1, page 104, ne représente que quelques-unes.

Aussi est-il intéressant de se demander ce qui arrive quand on supprime ce sucre, et quand on essaie de faire pousser des spores sur du liquide Raulin qu'on a débarrassé non seulement de son sucre, mais encore de son acide tartrique, qui peut, comme nous le verrons tout à l'heure, servir aussi à la rigueur de nourriture hydrocarbonée. La spore germe, pousse un tube mycélien grêle et court, et tout s'arrête bientôt, quand les réserves de la spore sont consommées.

Mais on peut ne supprimer le sucre que lorsque l'évolution est commencée, par exemple, lorsque le mycélium forme à la surface du liquide une pellicule déjà continue et résistante. Il suffit de décanter ce liquide, de laver une ou deux fois à l'eau distillée, et de rajouter du liquide Raulin réduit aux éléments minéraux, et acidulé au degré voulu par un peu d'acide sulfurique. L'inanition est alors mieux supportée. Il se forme çà et là des tubes sporifères, mais courts, leurs capitules sont incomplets et restent bruns au lieu de passer au noir, le nombre des spores du chapelet est toujours médiocre. Si on a attendu, pour supprimer le sucre, que les tubes sporifères soient déjà formés, alors que le capitule se réduit à un simple renflement absolument chauve, rien ou presque rien n'est changé à la fin de l'évolution. Les capitules sont aussi noirs et aussi fournis qu'à l'état normal.

Il est évident que dans cette plante, comme dans les plus élevées, cette partie importante du végétal se construit à l'aide de réserves, qu'on peut, du reste, mettre en évidence par l'expérience suivante.

On peut faire végéter l'*Aspergillus* et lui faire parcourir le cycle entier de son développement dans un liquide non sucré. Il

faut alors lui fournir de la matière azotée toute prête. Il consent alors à se faire de la cellulose et de la matière hydrocarbonée, de même qu'il consent à se faire de la matière azotée, quand on lui donne du sucre et des sels ammoniacaux; mais on n'en obtient rien quand on lui demande à la fois ces deux tâches.

Prenons donc une dissolution de bouillon Liebig qui est un peu acide, et ne contient que des traces de matériaux non azotés parmi lesquels il y a un peu d'acide sarcolactique, ou bien, ce qui vaut mieux pour la plante, mais ne modifie pas les conclusions à tirer, prenons de l'eau de levure qui, en dehors de ses substances azotées, contient une petite quantité de matériaux intermédiaires entre la cellulose et l'amidon, et aussi un peu de gomme; et faisons deux cultures comparatives de l'*Aspergillus* sur un de ces liquides, sucré dans un cas et pas dans l'autre.

Sur le premier, le développement est aussi beau que sur du liquide Raulin, et en examinant au microscope, dans la lumière polarisée, le filament fructifère, on le voit rempli d'une substance doublement réfringente qui n'existe ni dans le filament mycélien, ni dans le capitule si le capitule est jeune, mais qui y pénètre et disparaît peu à peu du filament à mesure que les spores se forment. Ce filament a, d'ailleurs, cet aspect finement granuleux des cellules chez lesquelles la vie est active.

Cette substance biréfringente est beaucoup plus diffuse ou même semble manquer complètement dans le filament fructifère mûri sur de l'eau de levure ou du bouillon Liebig non sucrés, et en regard de cette différence, nous pouvons tout de suite en mettre une autre.

Quand on cultive de l'*Aspergillus* dans du bouillon Liebig ou de l'eau de levure, le mycélium ne se développe guère, les filaments fertiles ne sont pas nombreux, et on les voit disséminés par groupes à la surface du mycélium comme des groupes de palmiers microscopiques. Le poids de la plante dépasse en général le poids de matière hydrocarbonée contenue dans ce liquide, mais pas de beaucoup. En revanche, les dimensions des tubes mycéliens et conidifères sont normales. Parfois même la largeur semble un peu plus grande que dans du liquide Raulin. Mais il y a un organe nettement sacrifié, c'est le renflement terminal avec ses rameaux verticillés et ses chapelets de spores. Les rameaux, au lieu de recouvrir toute la surface du renflement et de former

touffe, se localisent de plus en plus au sommet, où ils forment bouquet, en laissant nu tout le reste. Dans ce bouquet, les rameaux se raréfient de plus en plus, et au lieu de se ramifier en ramuscules, ils portent eux-mêmes les spores. Quelques-uns même avortent ou portent à leur extrémité des renflements maladifs. Les spores sont peu nombreuses et peuvent ne pas

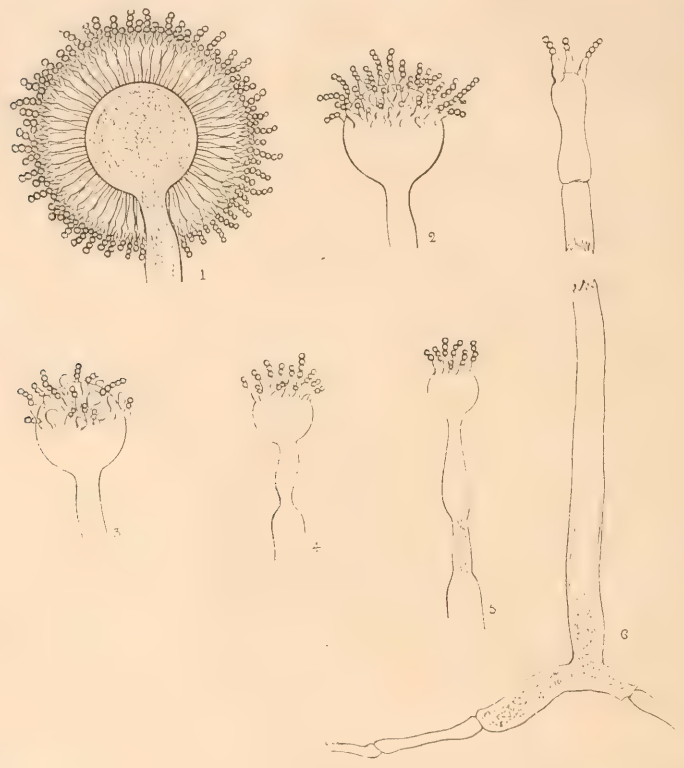


Fig. 1. — 1, 2, 3, 4, 5, 6, aspects divers du renflement conidien. On remarquera qu'en 6, le filament fructifère s'est cloisonné.

dépasser 2 ou 3 par chapelet. Enfin, au lieu du prendre une teinte noir foncé, elles restent brunes ou même jaunâtres. Parfois même la dégénérescence est telle qu'on hésiterait à reconnaître l'*Aspergillus*. La figure ci-jointe représente, au même grossissement de 500, un renflement normal, tel qu'on le rencontre dans le liquide Raulin, et des formes diverses, de la fructification des cultures pures sur bouillon Liebig ou dans l'eau de levure.

Ces spores imparfaites peuvent pourtant germer. Si on les reporte de nouveau sur bouillon Liebig ou eau de levure, elles donnent des plantes encore plus difformes, chez lesquelles les bouquets sporiques deviennent de plus en plus maigres et incolores. On est d'ailleurs bientôt arrêté par l'insuccès des ensemencements. Mais si, à un moment quelconque, on transporte sur du liquide Raulin ces spores affaiblies, on les voit de suite reprendre de la vigueur et donner des végétations aussi belles et aussi abondantes que si elles avaient été prises sur une culture prospère ; cela prouve que l'espèce n'a pas changé, mais qu'une mauvaise alimentation a surtout atteint la fonction de reproduction, et rendu passagèrement l'espèce méconnaissable.

II. — LACTOSE.

Avec ce que nous venons d'apprendre sur le saccharose, il est curieux de savoir comment se comporte le lactose. Son histoire peut être écrite en deux mots. De l'*Aspergillus*, semé sur du liquide Raulin où le sucre est remplacé par du lactose et l'acide tartrique par de l'acide sulfurique, ne se développe guère plus qu'il ne le ferait dans le même liquide sans sucre. Au contraire du sucre, le lactose est donc absolument impropre à la nourriture et à la construction des jeunes tissus. La plante peut pourtant s'en nourrir, mais à la condition d'être arrivée à l'état adulte. Si, sous un mycélium produit sur du liquide Raulin ordinaire, on fait arriver une solution de sucre de lait, ce corps est brûlé comme le sucre, avec formation intérimaire d'acide oxalique, mais plus lentement que le saccharose. Toutefois, la pellicule augmente de poids, mais moins qu'elle ne le ferait en consommant une quantité égale de sucre.

Il n'est pas facile de savoir à quoi ce lactose est surtout employé. En l'offrant à la plante, comme unique aliment, au moment où elle lance dans l'air ses tubes conidifères, on voit la sporulation se faire comme à l'ordinaire, et les bouquets de spores acquérir leur teinte noire normale. Mais nous avons vu que ce phénomène s'accomplit surtout à l'aide des réserves, et se ferait presque aussi bien en l'absence du sucre de lait.

L'augmentation de poids prouve pourtant qu'il y a création

de tissus nouveaux, et que si le lactose n'est pas un aliment de la plante jeune, il est un aliment de la plante adulte.

Cette conclusion doit être en rapport avec le mécanisme de la digestion du lactose. Il se transforme sous l'action des acides en galactose et en glucose, absolument comme le saccharose en lévulose et en glucose, et comme ce saccharose n'est jamais digéré qu'après cette transformation préalable, on a le droit de penser qu'il en est de même pour le lactose.

La justesse de cette hypothèse n'a pourtant été démontrée jusqu'ici par aucun argument vraiment probant, et nulle part on n'a pu saisir au passage ce galactose ou ce glucose qui résulteraient du dédoublement du lactose. Il était indiqué de l'essayer avec l'*Aspergillus*, qui ne doit peut-être de pouvoir se nourrir de lactose, à l'état adulte, que parce qu'il sécrète alors la diastase hypothétique qui dédouble ce sucre, et qu'il peut, en la laissant se diffuser dans le liquide, s'y préparer à l'avance de la matière alimentaire.

Il n'y avait donc qu'à voir si ce liquide contenait du galactose ou du glucose. Je dirai plus tard pourquoi on ne pouvait pas se servir pour cela de l'appareil polarimétrique. Mais, s'il y a dans le liquide du glucose fermentescible, on pourra le découvrir en soumettant ce liquide à la fermentation, ou en le faisant servir de substratum pour une nouvelle germination de spores d'*Aspergillus*. Sur ce dernier point, l'expérience prouve qu'elles y poussent mieux que sur une solution de lactose. J'avais cru trouver un meilleur argument en constatant que quelquefois, la solution de lactose, décantée après 24 heures de séjour sous la plante, avait pu subir une fermentation alcoolique véritable, avec fort dégagement gazeux. Mais j'ai découvert depuis que le sucre de lait peut aussi fermenter sous l'action de quelques levures, dont je ne pourrais pas certifier l'absence dans mes essais. C'est un sujet à reprendre.

III. — MANNITE.

La mannite se comporte comme le lactose vis-à-vis de l'*Aspergillus niger* : elle n'alimente pas la germination des spores, mais elle peut être brûlée par la plante adulte, en lui permettant une augmentation de poids; elle est brûlée avec formation intéri-

maire d'acide oxalique, et sans changer de nature, au moins en apparence, car d'une part, le pouvoir rotatoire de la liqueur reste inaltéré pendant toute la durée de la combustion, de l'autre, on n'y trouve, à aucun moment, autre chose que de la mannite. Sa disparition est encore plus lente que celle du sucre de lait.

Vis-à-vis de tous ces sucres, le *Penicillium glaucum* se comporte comme l'*Aspergillus*, mais il se montre en tout plus vivace. Il s'accommode, par exemple, beaucoup mieux des conditions défectueuses d'existence, et remplace volontiers l'*Aspergillus*, quand on fait des cultures à l'air sur des liquides Raulin à lactose ou à mannite. Il faut opérer en vases clos pour n'être pas exposé à ces envahissements, qui se font à l'aide des poussières de l'air, et alors même qu'on n'a semé que des spores pures d'*Aspergillus*.

IV. — AMIDON.

Examinons d'abord ce que devient l'amidon à l'état d'empois préparé à une température aussi basse que possible, de facon à réduire au minimum, si ce n'est à zéro, la proportion de matériaux réduisant la liqueur de Fehling. En remplaçant dans le liquide Raulin le sucre par son équivalent de cet empois, on voit la germination des spores et la végétation de la plante s'accomplir d'une façon tout à fait normale. La plante liquéfie l'amidon à l'avance, comme elle dédouble le sucre, et elle consomme les deux éléments dédoublés, toujours avec production intérimaire d'acide oxalique. La production d'acide et la production de sucre ne marchent pas naturellement du même pas : celle de l'acide marche d'accord, au moins pendant les premiers temps, avec la consommation alimentaire; celle du sucre représente, au contraire, l'équilibre variable entre la recette et la dépense, entre la quantité d'amidon rendu assimilable sous l'action de l'amylase secrétée par la plante, et la quantité de sucre consommée.

Cette faculté d'accommodation tient évidemment à ce que l'*Aspergillus* sécrète normalement, même lorsqu'il se nourrit de sucre, de l'amylase qui reste alors sans emploi, et devient la diastase nutritive dans le cas de l'empois d'amidon. Mais tout change, quand on emploie l'amidon cru.

La germination de la spore ne se fait pas sur un liquide Raulin, fait avec de l'amidon cru pour unique aliment hydrocarboné, l'acide tartrique étant remplacé par de l'acide sulfurique. Quand on laisse subsister l'acide tartrique dans la liqueur, c'est lui qui, comme nous le verrons tout à l'heure, suffit au premier développement de la plante, et, en lui permettant de traverser ce pas difficile, assure son avenir. La plante adulte peut, en effet, tirer parti de l'amidon cru, et voici ce qui se passe, quand, sous une pellicule prospère d'*Aspergillus niger*, on fait arriver de l'amidon en suspension dans l'eau.

Celui-ci se tasse d'abord au fond de la cuvette, et ne reste pas en contact avec le feutrage de mycélium superficiel; toutes les modifications qu'il va subir seront donc dues à des substances mises en solution dans l'eau par la plante.

Je prendrai pour type un amidon vendu comme amidon de riz, et très résistant. Au bout de 24 heures de séjour, on voit que les contours du granule sont légèrement crénelés, et après 48 heures, il présente une série de fentes irrégulières, rayonnant autour du hile; ces fentes s'élargissent et finissent par diviser le grain en une série de tronçons réunis autour du centre commun à la façon des pétales d'une fleur irrégulière. Ces tronçons se réduisent de plus en plus, et tout finit par se réduire à des granulations imperceptibles.

Cette corrosion, due évidemment à l'inégalité de résistance des couches superposées dans le granule, peut se manifester autrement, et attaquer ces couches par la tranche, en les dissolvant d'autant plus vite qu'elles sont moins résistantes. Un globule d'amidon se présente alors avec les aspects d'un navet qu'on aurait irrégulièrement façonné au tour. Ce sont ces deux modes de corrosion qu'on observe anssi bien dans le levain et le canal digestif des granivores, qu'au contact de tous les microbes qui sécrètent de l'amylase, et sont capables par là de se nourrir d'amidon cuit. Ils me paraissent être le résultat de l'action de l'amylase sur l'amidon cru, mais, comme cette action est toujours lente, il doit y avoir une autre diastase capable d'agir sur cet amidon cru. Cette diastase est encore à découvrir.

Je dois dire tout de suite que cette corrosion ne se fait pas également sur tous les grains. On rencontre souvent, surtout dans l'amidon de riz dont je me suis servi, des grains plus petits

et plus ronds que les autres, qui sont bien de l'amidon, car ils bleuissent par l'iode, mais qui restent inaltérés dans des conditions où les autres ont disparu. Il y a donc amidon et amidon, même dans la même plante.

En même temps que ce travail se poursuit, on voit apparaître du glucose, qui est brûlé peu à peu avec formation intérimaire d'acide oxalique. Le mycélium augmente de poids. Il est clair, sans que j'aie besoin d'insister, que l'amidon cru peut servir d'aliment à l'âge adulte, mais ne fournit qu'une alimentation médiocre.

V. — ALCOOLS.

L'étude des alcools va nous donner un exemple nouveau, et qui, à son tour, ne restera pas isolé, de la variété d'aspects sous lesquels peut se présenter à l'observation ce simple mot d'*aliment*. Quand on remplace par son équivalent en poids d'alcool, le sucre du liquide Raulin normal, on constate que la germination des spores se fait plus mal que dans le même liquide sans sucre : l'alcool gêne donc, ou même arrête l'action que pourrait produire à lui seul l'acide tartrique de la liqueur.

Il en est tout autrement quand on opère sur la plante adulte et sur un mycélium déjà formé. L'alcool est alors consommé avec une rapidité presque égale à celle du sucre, toujours avec formation intérimaire d'acide oxalique. Je n'ai jamais observé de production d'acide acétique. De plus, la végétation de la plante semble en recevoir un coup de fouet. On voit apparaître autour du tapis noir de spores, dans les régions où il ne recouvre pas complètement le liquide sous-jacent, un mycélium blanc de nouvelle formation, qui pousse ses tubes sporifères et noircit ses capitules à peu près aussi vite qu'il le ferait dans un liquide sucré. La plante en outre se défend mieux, les envahissements par le *Penicillium* sont moins à craindre. Bref, l'alcool, funeste à la plante en voie de germination, semble très bien convenir à la plante adulte, qui peut en supporter jusqu'à 6 et 8 0/0 dans le liquide nourricier. L'emploi du compte-gouttes, qui donne de très bons renseignements avec 5^{cc} de liquide, est très commode pour étudier ces phénomènes.

A mesure qu'on s'élève dans la série des alcools, on voit se res-

serrer les limites dans lesquelles il faut maintenir la proportion d'alcool pour permettre à la plante de le brûler, c'est-à-dire celles dans lesquelles l'alcool agit sur la plante adulte autrement que sur la plante en germination. Avec l'alcool butylique et surtout l'alcool amylique, on a tout de suite des effets toxiques sur les deux états de la plante. Nous retrouverons bientôt avec l'acide acétique et l'acide butyrique des phénomènes de même ordre.

La glycérine occupe une place intermédiaire entre les alcools monoatomiques et les glucoses. A dose élevée, elle tue la plante, à dose faible elle se comporte exactement comme le lactose.

VI. — ACIDE TARTRIQUE.

J'ai déjà dit que l'*Aspergillus niger* pouvait se contenter d'acide tartrique comme aliment hydrocarboné. Il en supporte et en brûle des doses assez considérables, et on arrive à peu près au même résultat, quant à la beauté de la végétation, qu'on ajoute peu à peu l'acide tartrique dans le liquide nutritif, ou qu'on le mette en une seule fois : le développement est complet, et les spores nombreuses et noires.

Quand on opère sur du liquide Raulin sans sucre et renfermant sa dose normale d'acide tartrique, c'est-à-dire 4 grammes par litre, la plante assure toujours sa reproduction, c'est-à-dire que son développement aboutit toujours à la formation des spores, mais son mycélium est peu abondant, et bien que la couche sporifère soit noire, les filaments conidiens et les capitules sont peu serrés. Si on transporte ces spores sur une nouvelle liqueur tartrique semblable à la première, la couleur noire des capitules diminue encore d'intensité, et en multipliant ainsi les ensemencements successifs, on arrive à obtenir des spores à peine colorées en brun verdâtre. Ensemençons alors sur du liquide Raulin complet ces spores décolorées, et faisons un ensemencement comparatif avec des spores normales, nous constaterons au bout de 3 jours les signes les plus manifestes d'une influence héréditaire, malgré les bonnes conditions du milieu nutritif. La cuvette ensemencée avec des spores provenant du sucre est noire, et ses capitules sont très volumineux. Dans l'autre, ils sont moins gros et d'un brun clair. Le diamètre du renflement

est à peu près le même; il n'y a pas de différence non plus dans la grosseur du filament sporifère, ni dans le diamètre transverse des filaments mycéliens, mais les stérigmates sont plus larges et plus courts dans la cuvette où les spores proviennent de cultures sur l'acide tartrique; les spores sont moins abondantes. Ces différences vont en s'effaçant à une seconde culture, et ont disparu à une troisième. Elles disparaissent déjà à la première si on a employé, pour la culture des spores sur l'acide tartrique, des liqueurs plus riches en acide, en renfermant par exemple 15 à 20 grammes par litre. Voilà donc un cas où la *qualité* de l'aliment n'est pas seule à jouer un rôle, et où nous voyons sa *quantité* intervenir et amener des influences héréditaires.

Le tartrate de potasse est aussi brûlé avec formation intérimaire d'oxalate de potasse qui finit par devenir du carbonate de potasse, dont l'alcalinité suspend et arrête tout développement nouveau.

VII. — ACIDE ACÉTIQUE ET ACIDE BUTYRIQUE.

Avec ces deux acides, les phénomènes sont du même ordre que ceux que nous avons constatés pour les alcools. L'acide acétique est toléré et brûlé à des doses assez considérables, allant jusqu'à 8 et 10 $^0/_0$. L'acide butyrique n'est toléré et brûlé qu'à des doses plus faibles, qui ne peuvent guère dépasser 1 à 2 grammes par litre, suivant l'état de vitalité et de jeunesse de la couche mycélienne à laquelle on le présente. Au delà de ces doses, il devient éminemment toxique, et, à la dose de 5 grammes par litre, il tue les filaments mycéliens, de façon à les rendre inertes quand on leur offre ensuite de l'eau sucrée à consommer.

Voilà donc une substance qui est alimentaire, à faibles doses, pour la plante adulte, et mortelle à des doses supérieures. On peut se rappeler, à ce sujet, que la chose semble tout à fait générale, et que les microbes, très nombreux, qui peuvent fabriquer de l'acide butyrique, n'en produisent des quantités sensibles que si on introduit dans la liqueur en fermentation du carbonate de chaux qui sature l'acide au fur et à mesure de sa production. Le butyrate de chaux est, en effet, facilement consommé par l'*Aspergillus* qui laisse à sa place des cristaux rhomboédriques de spath calcaire.

On peut se demander ce qui arrive lorsqu'on offre à la plante un mélange d'acide acétique et d'acide butyrique à des doses supportables. Il est très facile, en se servant de la méthode de distillation fractionnaire que j'ai fait connaître, de se renseigner sur la composition du mélange, après quelques jours d'action. On constate alors que l'acide acétique est brûlé plus rapidement que l'acide butyrique.

Il en est de même avec un mélange d'acide acétique et d'acide tartrique. Bien que ce dernier soit, comme nous l'avons vu, un aliment convenable, il disparaît moins vite que l'acide acétique. Ce n'est donc pas la qualité toxique de l'acide butyrique qui le protégeait dans l'expérience de tout à l'heure. Toutefois, l'acide acétique persiste longtemps dans son mélange avec l'acide tartrique. Au bout de deux jours de combustion d'un mélange à équivalents égaux, j'ai trouvé qu'il restait encore 50 °/₀ de l'acide tartrique, tandis que 95 °/₀ de l'acide acétique avaient déjà disparu.

Nous retrouverions des résultats du même ordre avec l'acide lactique qui est aussi brûlé, toujours avec formation intérimaire d'acide oxalique. Le lactate de chaux disparaît aussi sous l'action de la plante, avec formation d'oxalate de chaux et de cristaux rhomboédriques de sapth calcaire qui feutrent le mycélium. Dans un mélange à équivalents égaux d'acide lactique et d'acide acétique, c'est ce dernier qui est brûlé tout d'abord, cette fois sans que l'acide lactique soit atteint, au moins dans les commencements. La plante n'a recours à lui et ne le brûle que lorsque l'acide acétique commence à se faire rare.

On voit en résumé, par tous ces exemples, combien se complique, quand on l'examine d'un peu près, la signification en apparence si simple du mot aliment. Il y a des aliments de croissance, d'âge mûr, de réserve, d'attente, des aliments de fonction qui ne sont utiles qu'à une certaine période de la vie de la plante et pour certaines de ses cellules, etc., etc.. Je n'ai pas la prétention que toutes ces notions soient nouvelles ; beaucoup d'entre elles existent à l'état flottant dans la science ; mais je n'ai pas cru sans intérêt de les montrer toutes en jeu dans l'alimentation d'un végétal unique, presque rudimentaire, et dont on pourra trouver un peu imprévue l'exquise sensibilité.

NUTRITION HYDROCARBONÉE

ET FORMATION DE GLYCOGÈNE CHEZ LA LEVURE DE BIÈRE

Par E. LAURENT.

Les êtres privés de chlorophylle ou d'une substance analogue sont incapables d'assimiler l'acide carbonique ; néanmoins ils nous offrent des exemples remarquables de synthèses organiques. Tels sont beaucoup de microbes et surtout les levures, les formes-levures et les moisissures les plus communes. Cultivés dans des solutions qui renferment un aliment hydrocarboné de structure relativement simple, ces champignons se développent assez rapidement et se font des substances sucrées et albuminoïdes. Pour atteindre un pareil résultat, le protoplasme doit transformer un corps organique peu compliqué, acétates, lactates, etc..., en corps plus complexe. C'est là un travail de synthèse comparable à la production de sucre et d'amidon dans la cellule verte exposée à la radiation solaire.

Parmi les champignons inférieurs, la levure de bière se distingue par la variété des substances qui peuvent lui servir d'aliment hydrocarboné. Les études de M. Pasteur, de M. Naegeli et de quelques autres expérimentateurs avaient jusqu'ici démontré que ce microbe peut se nourrir des sucres, de la mannite, de la glycérine, de la dextrine, de l'amygdaline et de la salicine.

Dans le but d'étendre nos connaissances dans cette direction, j'ai fait un grand nombre d'essais avec des solutions organiques très variées. Afin d'éviter les erreurs qu'auraient pu causer des organismes étrangers, j'avais soin de stériliser les liquides et de n'employer, comme semence, que de la levure pure obtenue par la culture sur gélatine. La race employée est celle qui à Bruxelles sert à la préparation de la bière brune. C'est une levure haute très vigoureuse. Quelques essais m'ont montré que d'autres

races de levures, hautes et basses, conviennent tout aussi bien à ces essais et donnent les mêmes résultats.

La concentration des liquides organiques employés était dans la plupart des cas de 1 0/0 ; lorsque la substance est alimentaire, cette proportion suffit à la production d'un dépôt assez important.

La matière organique était ajoutée au liquide minéral suivant, calculé d'après la composition moyenne de la levure.

Eau.	1,000^{cc}
Sulfate d'ammoniaque	4^{gr},71
Phosphate de potassium.	0^{gr},75
Sulfate de magnésium	0^{gr},1

Les cultures faites à la température ordinaire ou à 25° environ duraient au moins cinq ou six jours ; avec les substances peu favorables, elles furent parfois conservées pendant deux ou trois mois.

Mes recherches ont montré que la levure peut emprunter sa matière organique aux corps suivants :

Acétates.
Glycol éthylénique.
Acide lactique.
Lactates.
Malonate de potassium.
Acide succinique et succinate d'ammoniaque.
Pyrotartrate de potassium.
Glycérine.
Glycérates.
Acide malique et malates.
Érythrite.
Acides tartriques et tartrates.
Acide citrique et citrates.
Quercite.
Mannite.
Sucres en $C^6H^{12}O^6$ et $C^{12}H^{22}O^{11}$.
Empois d'amidon et amidon soluble.
Gélose.
Lichénine.
Glycogène.
Gomme arabique.
Érythrodextrine et dextrine.
Saccharate de potassium.
Acide mucique.
Acide fumarique.
Leucine.
Acides aspartique, glutamique.
Asparagine, glutamine.
Salicine, amygdaline, esculine, coniférine, arbutine, saponine.
Atropine, colchicine.
Gélatine.
Albumine de l'œuf.
Caséine.
Peptone et caséone.

La levure ne peut assimiler :

Alcool méthylique,
— éthylique,
— propylique,
— butylique.
Éther éthylique,
— acétique.
Aldéhyde acétique.
Paraldéhyde.

Acide formique et formiates,
— propionique et propionates,
— butyrique et butyrates,
— valérianique et valérianates.
Stéarate de potassium.
Alcool allylique.
Oléate de potassium.
Acide oxalique et oxalates,
— pyrotartrique et glycérique libres.
Méthylamine.
Éthylamine.
Propylamine.
Glycocolle.
Hippurate de sodium.
Formamide.
Acétamide.
Urée.
Phénol.
Acide picrique.
Hydroquinone.
Phloroglucine.
Quinone.
Saligénine.
Benzoates.
Saccharine.
Salicylates.
Gallate et tannate d'ammoniaque.
Acide digallique (tannin).
Aniline et chlorure d'aniline.
Diphénylamine.
Chlorhydrate de naphtylamine,
— de phénylhydrazine.
Phloridzine.
Pyridine.
Chlorhydrate de cocaïne,
— de morphine,
— de strychnine,
— de brucine.
Caféine.
Sulfate neutre de quinine,
— de cinchonamine,
— d'atropine.
Nucléine.

Toute étude physiologique sur la levure de bière éveille à l'esprit l'idée de fermentation. Il convient pourtant de distinguer pour une matière organique donnée, le pouvoir nutritif et la propriété de subir la fermentation alcoolique, plus directement liée aux phénomènes de respiration.

Pour tous les corps qui j'ai étudiés, je me suis assuré qu'il n'y en a point qui puissent donner de l'alcool, en dehors des sucres déjà connus. Mais il y a ici un autre point de vue digne d'attention. Non seulement les corps autres que les sucres ne conviennent pas à la vie ferment, mais pour pouvoir servir d'aliment, ils doivent être consommés au contact de l'air. Afin de m'en convaincre, j'ai cultivé de la levure dans des tubes à essais contenant quelques centimètres cubes des solutions suivantes additionnées de matières minérales :

Glycérine	5 0/0
Lactate de potassium	2 0/0
Tartrate de potassium	2 0/0
Succinate d'ammoniaque	2 0/0

Des cultures servant de témoins ont été laissées au contact de l'air, protégées contre les poussières par un tampon d'ouate. Dans

une autre série, les tubes à essais ont été étirés, puis j'y ai fait le vide au moyen de la pompe à mercure. Après un mois, les solutions exposées à l'air avaient donné des dépôts de cellules de levure relativement volumineux ; dans le vide, l'accroissement avait été beaucoup moindre. J'attribue le faible développement qui s'y est fait, à l'oxygène que la levure avait dù fixer avant d'être privée d'air.

La levure de bière n'est pas seulement capable de se nourrir des substances organiques dont je viens de faire l'énumération. Lorsque la nutrition est suffisamment favorable, elle peut faire des réserves hydrocarbonées. Comme dans la grande majorité des champignons, ces réserves sont chez la levure constituées par du glycogène. La nature glycogénique de ces réserves a été établie par M. Errera [1].

L'existence d'une réserve hydrocarbonée chez la levure a été signalée pour la première fois par M. Pasteur [2]. Ce savant avait constaté que de la levure ajoutée à de l'eau sucrée augmente non seulement de poids, mais que sa substance hydrocarbonée s'accroît dans une proportion très sensible. Pour M. Pasteur, c'était du sucre qui s'était transformé en cellulose ; aujourd'hui, nous comprenons mieux ce phénomène : il y avait eu production de glycogène.

Plus tard, M. Béchamp retira de la levure une matière gommeuse [3], qui fut par la suite étudiée par MM. Naegeli et Lœw [4]. D'après M. Naegeli, ce mucilage provenait de la membrane.

Il faut rapprocher de ces premiers travaux sur l'existence d'une réserve hydrocarbonée chez la levure cette ancienne observation vérifiée par M. Pasteur et M. Béchamp, que de la levure de bière délayée dans l'eau pure et abandonnée à elle-même, laisse dégager de l'acide carbonique. En outre, il se forme dans le liquide de l'alcool, dont la proportion augmente de jour en jour.

Les expériences de MM. Schutzemberger et Destrem [5] ont

1. L. Errera, l'Epiplasme des Ascomycètes et le glycogène des végétaux Bruxelles, 1882.

2. Pasteur, Mémoire sur la fermentation alcoolique, *Ann. de Chimie et de Physique*, 3ᵉ série, t. LVIII, et *Comptes rendus*, t. XLVIII, p. 640.

3. *Comptes rendus*, t. LXXIV, p. 187.

4. *Sitzungsber. der K. bayer. Akad. der Wiss.*, VIII, p. 161, 1878.

5. *Comptes rendus*, LXXXVIII, p. 289 et 493, 1874, et *Bull. de la Soc. chim. de Paris*, t. XXI, p. 204.

permis d'interpréter cette production d'alcool en apparence inexplicable. Elles ont démontré que dans les essais de culture de la levure dans l'eau distillée, elle subit une perte de poids notable qui porte surtout sur le carbone. Dans les expériences d'autophagie et d'auto-fermentation, cet organisme doit donc détruire une matière hydrocarbonée, qui, au contraire, reste ou est remplacée dans les cas de fermentation ordinaire.

Après avoir discuté la nature de cette réserve, M. Errera arrive à cette conclusion qu'il doit exister dans le protoplasme de la levure quelque hydrate de carbone assez facile à saccharifier. L'examen microchimique avait permis à cet observateur de constater que des levures de brasserie renferment 5 à 6 % de cellules qui prennent une coloration rouge brun acajou sous l'action de l'iode, comme le fait le glycogène. Des tentatives d'extraction de cette substance ne donnèrent pas de résultats bien précis : les réactions ne concordaient pas complètement avec celles du glycogène animal. Néanmoins, des travaux de ses devanciers et de ses propres analyses, M. Errera[1] concluait dès 1882 que la levure renferme du glycogène typique.

Trois années plus tard, le même auteur a affirmé ce fait en se fondant sur la culture de la levure dans une solution minérale additionnée de sucre et portée à 30° environ[2].

« Dans une culture vigoureuse de levure de bière, on remarque bientôt que toutes les cellules ne se colorent plus toutes uniformément en jaune par l'iode, comme elles le font d'ordinaire dans la levure primitive. Plus la culture est vigoureuse, plus on trouve des cellules de levure que l'iode colore en brun rouge. Avec quelque attention, il est facile de constater que ces cellules donnent très nettement toutes les réactions indiquées pour le glycogène : la teinte brune disparaît à chaud et reparaît à froid; si l'on écrase les cellules, on voit la substance brune se dissoudre dans l'eau qui les entoure ; en opérant sur un petit amas de cellules de levure, comme il s'en forme toujours dans les préparations, on s'assure même qu'à l'endroit précis où l'on a écrasé les cellules colorées par l'iode, le liquide prend une nuance brun-rouge qui, elle aussi, disparaît par la chaleur et revient par le refroidissement. Après l'écrasement et la dissolution du glycogène, les

1. *Loc. cit.*, p. 34.
2. *Comptes rendus*, t. CI, p. 258, 1885.

restes des cellules de levure se colorent seulement en jaune par l'iode, à la manière des substances albuminoïdes. Dans beaucoup de cellules de levure, le glycogène forme un amas semi-lunaire, réfringent, comme on l'observe souvent dans le règne animal; d'autres fois, le glycogène est si abondant qu'il remplit toute la cellule. »

Pour observer la production de glycogène dans la levure, il ne suffit pas toujours de la cultiver dans des liquides nutritifs. Lorsque la croissance est rapide, on ne peut souvent s'apercevoir de la présence de cette réserve par l'examen microscopique le plus attentif. Il en est de même pour les mycéliums de moisissures communes, développés dans des solutions organiques. Mais cultivés sur gélatine sucrée, ces mycéliums présentent toujours la réaction du glycogène de la manière la plus évidente. Cette remarque me fit essayer la réaction du glycogène avec les colonies de levure cultivée sur moût de bière gélatinisé. Dès le troisième ou le quatrième jour de culture, l'iode leur donne une coloration d'un rouge foncé presque noir; les cellules sont gorgées de glycogène.

Une telle abondance de réserves s'explique aisément si l'on réfléchit que, sur un milieu solide, l'accroissement de la levure est contrarié par la consistance du milieu.

A partir du moment où je fis cette observation, j'adoptai pour mes recherches sur la formation de glycogène la culture sur gélatine, concurremment avec les essais dans des solutions nourricières.

Toutes les variétés de gélatine que l'on rencontre dans le commerce ne conviennent pas à ces expériences, car elles ne sont pas également alimentaires pour la levure. Il faut faire choix d'une qualité qui permet, lorsqu'elle est privée de toute autre matière organique définie, la production de très petites colonies dépourvues de glycogène.

Quoique la gélatine renferme assez de matières minérales pour le développement des colonies de levure, j'ai préféré la dissoudre dans le mélange salin que j'ai indiqué précédemment. Une proportion de 7, 5 0/0 de gélatine suffit lorsque la température ambiante ne dépasse pas 20°. Le mélange était réparti par 5 centimètres cubes dans des tubes à réaction, et j'y ajoutais la substance à soumettre à l'essai. Le tout était sté-

rilisé à la vapeur, puis ensemencé avec une très petite quantité de cellules de levure.

L'examen des colonies colorées par l'iode ne suffit pas à démontrer la présence du glycogène dans la levure cultivée sur gélatine. Il est prudent de faire en outre l'examen microscopique des cellules afin d'avoir une certitude complète.

La gélatine additionnée de substances peu nutritives, comme les acétates, tartrates, etc., donne rarement des colonies à cellules riches en réserves ; dans ce cas, il est plus avantageux d'observer les dépôts formés dans les solutions de ces substances.

J'ai constaté la production de glycogène par la levure aux dépens de :

Lactates,
Acide succinique et succinate d'ammoniaque,
Glycérine,
Acide malique et malates,
Mannite,
Sucres en $C^6H^{12}O^6$ et $C^{12}H^{22}O^{11}$,
Glycogène,
Gomme arabique,
Erythrodextrine et dextrine,
Acide mucique,
Asparagine et glutamine,
Salicine, amydaline et quelques autres glycosides,
Albumine de l'œuf,
Peptone et caséone.

Il ne faut pas cependant exagérer la distinction des corps facteurs et non facteurs de glycogène chez la levure. L'existence de la réserve hydrocarbonée peut être toute passagère ; faute d'observations microscopiques assez nombreuses, elle peut échapper à l'examen.

*
* *

Est-il possible de déterminer la quantité de glycogène que renferme un poids de levure riche en réserves hydrocarbonées? La réponse à cette question n'est pas des plus faciles. Il est indispensable, si l'on veut doser le glycogène en nature, de détruire les membranes cellulaires du champignon. Elles sont si résistantes que les réactifs qui les dissolvent, attaquent, en même temps, la réserve hydrocarbonée et la transforment en produits

sucrés. On ne peut non plus briser les membranes au moyen du pilon et extraire le glycogène par les procédés adoptés en physiologie animale. Beaucoup de cellules, je m'en suis assuré, résistent à ce traitement, quelle qu'en soit l'énergie.

Il fallait donc trouver une méthode indirecte capable de fournir des indications assez exactes sur la quantité de matières hydrocarbonées autres que la cellulose que renferme la levure.

Trois procédés étaient à ma disposition :

1 Transformer par un acide le glycogène en sucre réducteur, sans altérer les membranes.

2° Peser un poids de levure bien nourrie, à réserve abondante, épuiser un poids égal par autophagie, et déterminer la perte de poids.

3° Doser la quantité d'alcool produite par un poids de levure soumise à l'autophagie et en déduire la quantité de matière sucrée consommée.

Aucun de ces procédés ne peut fournir des indications absolument précises. Pour le premier, on peut objecter que les couches cellulosiques sont exposées à se trouver attaquées par des acides et donner également du sucre réducteur. Dans les phénomènes d'autophagie, il n'y a pas seulement que du sucre consommé, mais aussi une certaine quantité de matières albuminoïdes.

Le dosage de l'alcool ne peut pas atteindre une précision très rigoureuse. Enfin, il convient encore de remarquer que, par ces moyens, on évalue la réserve glycogénique augmentée de la proportion de sucre intracellulaire qui n'est pas encore ou qui n'est plus à l'état de glycogène.

Néanmoins, je me suis décidé à adopter les trois procédés et à en comparer les résultats. Il s'en dégage, comme on va le voir, une notion suffisamment nette sur l'importance des réserves hydrocarbonées de la levure.

Des essais préliminaires m'avaient montré que les liquides qui renferment de 10 à 15 0/0 de saccharose sont, pour la levure de bière, les plus favorables à la formation du glycogène. Cette notion acquise, il y avait lieu de posséder quelques indications sur le temps nécessaire à l'accumulation et à la disparition de glycogène à l'intérieur des cellules. Plusieurs expériences ont

été établies dans ce but. Voici les résultats fournis par l'une d'elles.

Le 20 décembre 1887, à midi, je mets sur un dépôt épuisé de levure 20 centimètres cubes de liquide de touraillons additionné de saccharose à 10 0/0; après agitation, la culture est placée à la température de 28°. Le même jour, à 5 heures, la réaction du glycogène est très nette dans les cellules adultes qui ne sont pas trop âgées. Le lendemain à 10 heures, il y a énormément de glycogène dans le dépôt. La même observation fut faite le 22 et le 23 décembre. Le 24, à 5 heures du soir, la quantité de glycogène a diminué; la plupart des cellules les plus âgées des amas cellulaires n'en renferment plus; au contraire, les cellules les plus jeunes se colorent par l'iode en rouge brun assez foncé.

Les jours suivants, le reste du glycogène ne disparaît pas, ce que j'attribue à l'influence de l'alcool produit dans le liquide. Pour m'en assurer, le 27 décembre, je décante le liquide et je verse sur la levure 20^{cc} de liquide de touraillons non sucré. Au bout de 24 heures, la quantité de glycogène a fortement diminué; le 30, il n'y en a plus de traces.

A la suite de cet essai, j'ai conclu que la quantité de glycogène augmente graduellement dans les cellules de levure, qu'elle diminue ensuite, et disparaît lorsque l'énergie de la fermentation n'est pas diminuée par l'influence de l'alcool.

Plusieurs expériences ont été faites dans le but d'évaluer la réserve hydrocarbonée de la levure. Celle dont voici l'exposé m'a donné les résultats les plus complets et les plus remarquables.

Le 20 octobre 1888, après midi, je prends 20 grammes de levure de bière pressée, provenant de brasserie; elle était relativement très pure et absolument dépourvue de fécule. Dans les cellules, je trouve un peu de glycogène.

Je délaye cette levure dans du liquide de touraillons pour faire exactement 200^{cc} et je mets le matras à l'étuve à 20-22°. Afin de faciliter la désagrégation des grumeaux formés par la levure, j'agite le contenu du vase toutes les demi-heures.

En même temps, je dessèche 10 grammes de cette levure pour évaluer la quantité de matière sèche qu'elle renferme; je trouve 2^{gr},276.

2 grammes sont délayés dans 200^{cc} d'eau distillée à laquelle

j'ajoute 5cc d'acide sulfurique. Je m'étais assuré au préalable que l'ébullition avec l'acide ainsi dilué saccharifie la réserve glycogénique, mais respecte les membranes cellulaires. Une concentration plus forte en provoque la désagrégation. Après cinq heures d'ébullition du mélange indiqué, j'ai dosé pour les deux grammes de levure, 0gr,086 de sucre avec la liqueur de Fehling.

La levure employée renferme donc pour 2 grammes de poids frais ou 0,4552 poids sec, 0,086 de matieres hydrocarbonées, soit 18,9 0/0. Il en est souvent ainsi dans les levures de brasserie, qui, à cause de l'influence de l'alcool des bières, ne peuvent digérer les derniers restes de leurs réserves nutritives.

Les 20 grammes de levure délayés dans les 200cc de liquide de touraillons contiennent donc 0gr,860 de matières hydrocarbonées.

Le 20 octobre, à 6 heures du soir, je verse les 200cc du mélange préparé quelques heures auparavant dans 800cc de liquide de touraillons avec 15 0/0 de saccharose. Le tout constitue un litre de liquide et renferme 12 0/0 de sucre. Ce mélange est placé pendant la nuit à 28° jusqu'au lendemain 8 heures du matin. Il est alors fortement agité pour le rendre bien homogène. Les cellules de la levure sont littéralement bourrées de glycogène.

Les 1,000cc de liquide sont répartis en dix portions aussi égales que possible. Les cinq premières sont retirées le 21 à 8 heures 1/2 du matin.

Première portion. — Elle est filtrée, lavée à plusieurs reprises avec l'eau distillée; puis la levure est délayée dans 100cc d'eau distillée, abandonnée pendant la nuit à la température de 8 à 12°, dans le but de doser le sucre qui aurait pu diffuser au travers des membranes cellulaires. Le 22 octobre, à 10 heures, je trouve dans le liquide 0,1 0/0 de sucre et 0,05 0/0 d'alcool. Le dosage du sucre est fait au moyen de la liqueur de Fehling, et pour l'alcool j'emploie le compte-gouttes de M. Duclaux. Trois jours plus tard, tout le sucre a disparu, mais il y a 0,1 0/0 d'alcool. La levure desséchée pèse 0gr,464.

Deuxième portion. — La deuxième portion est d'abord traitée de la même manière que la première, puis placée à 28° pour servir à une expérience d'autophagie. Le 22, au matin, les cel-

lules sont encore très riches en glycogène; celui-ci a complètement disparu le lendemain matin, et je trouve :

Poids de levure	0gr,4625
Alcool	0,1 0/0
Sucre	0,0

Troisième et quatrième portions. — 200cc sont filtrés, et la levure, après lavage, est délayée dans 200cc d'eau distillée; j'y ajoute 5cc d'acide sulfurique, puis je fais bouillir pendant cinq heures. Les membranes cellulaires ont résisté à ce traitement et présentent dans leur intérieur des corpuscules brillants assez gros, constitués sans doute par les débris d'albuminoïdes. Le liquide donne avec la liqueur 0,41 de sucre (pour 4 grammes de levure fraîche).

Cinquième portion. — Celle-ci, le 21 octobre, à 8 heures 1/2 du matin, est filtrée et lavée afin de déterminer le poids de la levure gorgée de glycogène.

Poids de levure	0gr,647
Sucre réducteur	6gr,9 0/0
Alcool (en poids)	2,4 0/0

Les trois portions suivantes sont retirées de trois heures en trois heures.

Sixième portion. — A 11 heures 1/2, je prélève 100cc.

Poids de levure	0gr,689
Sucre	6,4 0/0
Alcool	2,65 0/0

Septième portion. — A 2 heures 1/2, la septième portion donne :

Poids de levure	0gr,6635
Sucre	5,6 0/0
Alcool	3,0 0/0

Huitième portion. — A 5 heures 1/2, nouveau prélèvement :

Poids de levure	0gr,657
Sucre	5,2 0/0
Alcool	3,2 0/0

Pendant la nuit, le matras qui renferme les deux dernières portions est mis à l'étuve à 28 degrés. Le lendemain, à 8 heures du matin, la quantité de glycogène dans les cellules est toujours considérable.

Neuvième portion. — 100cc prélevés le 22, à 8 heures 1/2, donnent :

Poids de levure.	0gr,6555
Sucre	2,8 0/0
Alcool.	4,3 0/0

La dernière portion est transvasée dans un matras plus petit pour éviter une aération trop abondante, et, par suite, une multiplication cellulaire trop active. Elle restera à 28° jusqu'à ce que le glycogène ait disparu de la majeure partie des cellules.

Le 25 octobre, beaucoup de glycogène persiste dans les cellules. Je filtre pour séparer la levure que je délaye dans 100cc d'eau pure, afin de hâter la consommation des dernières réserves. Dans le liquide filtré, il y a :

Alcool	5,4 0/0
Sucre	0,2 0/0

Le 28 octobre, à 6 heures du soir, je filtre le mélange d'eau et de levure. J'obtiens :

Poids de levure.	0gr,467
Alcool.	0,1 0/0
Sucre	0,0

Il ressort de cette expérience que la levure peut accumuler des réserves glycogéniques très importantes.

J'ai obtenu, comme poids de levure privée de réserves par autophagie, les chiffres suivants : 0gr,466, 0gr,4625 et 0gr,467, soit, comme moyenne, 0gr,4645. Les 2 grammes de levure originelle qui correspondent à chaque portion, représentaient 0gr,4552 de matière sèche. Ce poids de levure ne s'est presque pas accru dans le milieu sucré. Il est possible qu'il y ait eu multiplication cellulaire, mais que l'augmentation de poids qui en est résultée, ait tout simplement compensé la diminution de poids due à l'épuisement de la réserve hydrocarbonée primitive.

Quoi qu'il en soit, la levure n'en a pas moins fait une réserve hydrocarbonée qui, après 17 heures, portait le poids à 0gr,689. Cette réserve diminue bientôt et ne disparaît que lorsque la levure est plongée dans l'eau distillée.

La quantité de réserves hydrocarbonées est égale à $0^{gr},689 - 0^{gr},4645$ ou $0^{gr},2245$.

Cette proportion concorde avec la quantité d'alcool ($0^{gr},1$) donnée par les essais d'autophagie, ainsi qu'avec la quantité de sucre ($0^{gr},205$) trouvée dans la levure traitée par l'acide sulfurique. Les variations entre ces chiffres sont inférieures aux limites d'approximation des méthodes d'analyse de l'alcool et du sucre. Nous pouvons donc adopter la différence signalée dans les pesées, et qui correspond au poids de réserve hydrocarbonée, comme très rapprochée de la vérité. Dans ce poids intervient cependant une certaine portion de sucre qui, malgré les lavages répétés des dépôts de levure, est retenue par le protoplasme.

Comparée au poids de la levure, la quantité de glycogène constatée dans l'expérience actuelle en représente $\frac{2245}{6890}$ ou 32,58 0/0. C'est le chiffre le plus élevé que j'aie observé dans la série de ces recherches.

Jusqu'ici, aucune réserve glycogénique aussi forte n'a été signalée chez les champignons, les Myxomycètes, ni même chez les animaux. Cependant, le chiffre que je viens d'indiquer est encore bien inférieur aux quantités de matières amylacées qui se rencontrent dans les graines et surtout dans les tubercules des plantes vertes. Ainsi, on indique : dans la pomme de terre, 20,6 parties d'amidon pour 25 de matière sèche ou 82,4 0/0; dans les grains de blé, 61,8 parties d'amidon pour 86 de matière sèche ou 71,86 0/0.

L'accumulation de glycogène dans la levure complète l'histoire des phénomènes d'autophagie signalés à diverses reprises. Cet hydrate de carbone existe souvent en assez grande abondance dans les levures qui proviennent des brasseries. Ainsi s'expliquent aussi certains résultats observés jadis par M. Pasteur et M. Duclaux. Ces savants avaient observé que lorsqu'on fait usage d'un poids de levure en pâte supérieur à 15 0/0 du sucre à fermenter, on recueille après la fermentation moins de levure qu'on n'en avait mis. La différence correspond aux matières dissoutes qui ont traversé les membranes cellulaires, et surtout aux substances glycogéniques utilisées par la respiration de la levure.

REVUES ET ANALYSES

SUR LA DIGESTION DES MATIÈRES GRASSES

REVUE CRITIQUE.

Th. Cash. Sur la part que prennent l'estomac et le pancréas dans la digestion des corps gras. *Du Bois'Archiv.*, 1880, p. 323. — Ogata. Sur la décomposition des corps gras neutres dans l'estomac vivant. *Du Bois Archiv.*, 1881, p. 315. — Frey. *Id.*, 1881, p. 192. — Muller. *Zeitschr. f. klin. Medicin*, t. XII, p. 108, 1885. — Heydenhain. *Pflüger's Archiv*. Supp. au t. 43, p. 88. — Ewald et Boas. Contributions à la physiologie et à la pathologie de la digestion. *Virchow's Archiv.*, t. 104, p. 302. — Dastre. Sur le rôle de la bile dans la digestion des matières grasses. *Soc. de biologie*, 1887. — Klemperer et Scheurlen. Sur le sort des matières grasses dans l'estomac. *Zeitschr. f. klin. Medicin*, t. XV, 1889, p. 370.

Les matières grasses sont en ce moment les seules dont on puisse exposer le mode de digestion, en conservant dans l'esprit quelque quiétude professorale. Les autres substances alimentaires semblent être digérées un peu partout. Si les livres élémentaires leur assignent à chacune un liquide digestif spécial, c'est seulement par des raisons de tradition ou de sentiment, et en négligeant tous les résultats contradictoires de l'opinion adoptée. Avec les corps gras, au contraire, et depuis les recherches classiques de Cl. Bernard, il est démontré qu'elles ne s'émulsionnent que lorsqu'elles viennent au contact du suc pancréatique. Le pancréas est donc l'organe digestif des matières grasses.

J'ai essayé de préciser ces notions en montrant que lorsqu'on supprime l'action des microbes, qui, trop souvent, dans les expériences de digestion naturelle ou artificielle, sont intervenus à l'insu des expérimentateurs, on arrive à localiser beaucoup mieux les points où se digèrent les diverses substances alimentaires. Mais je n'ai pas poussé jusqu'au bout l'étude de cette localisation, parce qu'il m'a paru que la distribution des diastases digestives dans une même espèce ou dans un même individu n'était pas constante, et restait, dans une certaine mesure, fonction du mode d'alimentation.

Relativement aux matières grasses, j'ai fait voir qu'on avait le droit

d'attribuer à des actions tout à fait extérieures au suc pancréatique la saponification observée par Cl. Bernard dans les corps gras émulsionnés par la digestion ; que l'émulsion n'était pas du tout un phénomène de l'ordre chimique, mais uniquement de l'ordre physique; et qu'il pouvait ne rien changer à la constitution de la matière grasse émulsionnée, à la condition que le liquide émulsif fût tout à fait sans action sur elle. Il n'y a donc pas, à proprement parler, de digestion des matières grasses par le suc pancréatique, c'est-à-dire d'action analogue à celles que subissent par exemple le saccharose ou l'amidon, qu'on ne peut plus ramener à leur forme initiale quand ils ont été touchés par les liquides digestifs. La matière grasse reste ce qu'elle était : elle est donc non pas digérée, mais élaborée de façon à pouvoir pénétrer dans le protoplasma cellulaire ou circuler facilement dans les canaux étroits des lymphatiques.

On la trouve en effet dans les chylifères sous la forme de fins globules de dimensions très diverses, mais tous très petits, et quelques-uns tout à fait imperceptibles. Cet extrême état de division, et l'intervention des forces capillaires autour de chaque globule masquent totalement les propriétés de la matière grasse. Elle échappe par exemple à ses dissolvants ordinaires; on peut agiter du chyle ou du lait avec de l'éther sans que celui-ci se charge, en remontant à la surface du mélange, de quantités sensibles de matière grasse. On a voulu faire servir ce résultat à démontrer l'existence, autour de chacun des globules gras du lait, d'une enveloppe cellulaire empêchant le contact avec l'éther. Mais alors, il faut accepter la même conclusion pour le chyle, et admettre que chaque globule de la matière grasse, puisée dans l'intestin, s'entoure, au passage dans les villosités, d'une enveloppe cellulaire. Croit-on pouvoir aller jusque-là ? Si on y vient, voici un pas encore plus difficile à franchir. Si on agite un instant de l'huile avec 10 fois son volume d'une solution étendue de potasse, on obtient une émulsion qu'on peut rendre très fine, et qui, vis-à-vis de l'éther, se comporte comme le chyle et le lait. De quoi serait faite ici cette enveloppe protectrice? Concluons-donc que la matière grasse est absorbée en nature dans l'intestin, et que l'émulsion n'est que l'acte préparatoire d'une digestion véritable, si tant est que les matières grasses aient besoin d'être digérées, au sens ordinaire du mot.

L'émulsion rend évidemment plus facile, en multipliant beaucoup les surfaces, l'attaque de la matière grasse par le milieu liquide ou gazeux extérieur, et il y a à se demander, à ce point de vue, quelles sont les conditions qui la favorisent. Dans un travail consacré spécialement à l'étude de cette question [1], j'ai montré qu'elle dépendait de

1. Sur la tension superficielle des liquides. *Ann. de Ch. et de Phys.*, t. XXI, 1871.

circonstances purement physiques, et qu'elle était en particulier indépendante de la réaction acide, neutre, ou alcaline de la matière grasse ou du liquide émulsif. On peut émulsionner un acide gras comme un corps gras neutre, mais en général, l'alcalinité du milieu rend l'émulsion plus facile et plus persistante. En revanche, j'ai fait voir, dans un autre travail[1] que la saponification de la matière grasse, sous l'influence du temps, était beaucoup plus rapide dans les milieux acides que dans les milieux alcalins. En revanche encore, les phénomènes d'oxydation par l'oxygène libre ou l'oxygène dissous sont plus marqués dans les milieux alcalins.

On pourrait tirer de là des inductions générales sur le sort de la matière grasse quand elle a été amenée dans un milieu alcalin comme le sang. Mais c'est là un point que je réserve pour une étude prochaine. Je n'ai rappelé ces diverses particularités que pour les faire servir à l'étude de l'acte préliminaire de la digestion, de l'absorption des matières grasses sur les divers points du canal digestif, et des travaux dont cette question a été l'objet. Nous allons voir que les conclusions de la plupart de ces travaux se trouvent frappées de discrédit, pour avoir négligé ces notions fondamentales, qui sont restées peu connues. C'est une bien fâcheuse barrière que la différence des langues. C'en est une non moins fâcheuse que la multiplicité des journaux non spécialisés pour un certain ordre d'études. On ne peut pas les avoir tous. On ne sait pas toujours tout ce qui se passe chez soi; on est encore bien moins au courant de ce qui se publie au delà de la frontière. Il y a des travaux qui passent inaperçus et qu'on recommence de bonne foi. Dans l'espèce, MM. *Frey* et *Muller* ont retrouvé quelques-uns de mes résultats, à moins que ce ne soit moi qui aie retrouvé ceux de MM. *Muller* ou *Frey*, ou de quelque autre savant. La chose est peu importante : je n'ai jamais fait de réclamation de priorité, et n'ai jamais répondu à aucune. Le seul point que je veuille prouver, c'est qu'il résulte de cette situation un grand gaspillage de temps et de forces.

C'est surtout de l'Institut physiologique de Leipzig que sont sorties les études sur l'action des diverses parties du canal digestif sur les matières grasses. Envisageons d'abord l'estomac. Comment se comporte-t-il avec les corps gras qui le traversent ?

Nous pouvons prévoir, avec ce que nous savons, qu'en présence du contenu généralement acide de cet organe, la matière grasse pourra éprouver un commencement de saponification, et que, si elle est neutre, elle y donnera des acides gras. C'est en effet ce que *Cash* a constaté.

1. Sur la durée de la vie chez les germes de microbes, *Ann. de Ch. et de Phys.*, 6e s.; t. V, 1885.

La muqueuse broyée d'un estomac de chien, laissée pendant quatre heures en contact avec son poids environ de matière grasse neutre, y a produit une proportion d'acides gras comprise entre 1 et 2 pour 100 du poids de la matière grasse, et qui augmentait quand on acidulait le mélange par l'acide chlorhydrique. *Ogata* a retrouvé les mêmes résultats sur l'animal vivant. En injectant de l'oléine pure, à travers une fistule, dans l'estomac d'un chien, il a retrouvé, au bout de quelques heures, de l'acide oléique. Enfin, MM. *Klemperer* et *Scheurlen* ont précisé le phénomène par une mesure quantitative. En injectant, par la méthode que nous indiquerons tout à l'heure, de l'oléine pure dans l'estomac d'un chien, ils ont trouvé à l'état libre, après 3 heures de séjour, une quantité d'acide oléique représentant 1,23 pour 100 de celui que contenait l'oléine ingérée. Cette saponification si médiocre suffirait, si elle se faisait en liquide alcalin, à assurer l'émulsion, mais en milieu acide, la matière grasse ne se divise que grossièrement, et il reste à savoir si, bien qu'il n'y ait pas d'émulsion, la muqueuse de l'estomac peut absorber les corps gras.

Il n'est pas, en effet, démontré que l'émulsion soit une condition nécessaire de l'absorption et doive la précéder. *Will* a montré que dans l'intestin de la grenouille les corps gras ne sont pas émulsionnés, mais saponifiés et rendus ainsi solubles dans l'eau. D'un autre côté, de nombreux histologistes, parmi lesquels *Heidenhain*, admettent que la division des gouttelettes du chyle ne se produit ni dans l'intestin, ni dans l'épithélium ou dans le parenchyme des villosités, mais au moment de la pénétration dans les chylifères. Peut-être y aurait-il quelque chose à dire à cette double conclusion, mais tant qu'elle n'a pas été contredite, elle témoigne que la question de l'absorption stomacale de la matière grasse n'est pas résolue, et a besoin d'être étudiée expérimentalement.

C'est ce qu'ont fait MM. *Ewald* et *Boas*, mais par des moyens trop imparfaits qui les ont empêchés d'arriver à aucune conclusion. Ils faisaient ingérer à des patients un mélange d'huile et d'amidon cuit, qu'ils allaient rechercher après quelques heures au moyen de l'aspiration stomacale, et ils constataient des pertes de matière grasse que rien ne les autorisait à attribuer à une absorption.

MM. Klemperer et Scheurlen se sont préoccupés, avec juste raison, de fermer complètement, au pylore et au cardia, l'estomac sur lequel ils voulaient opérer. Les chiens supportent très bien l'opération. L'animal, soumis à un jeûne de 24 heures, subit d'abord un lavage stomacal à l'eau chaude. On l'endort, on fait une laparotomie et on lie l'estomac 1 à 2 centimètres au-dessous du pylore. A l'aide d'une seringue en communication avec une sonde, on fait pénétrer une certaine quantité de corps gras. Une pesée de tout l'appareil, faite avant et

après l'injection, donne le poids de la matière introduite. On enlève la sonde, on fait la ligature du cardia, en respectant les gros vaisseaux, de façon à ce que l'estomac conserve à peu près son état physiologique. Au bout de 3 à 4 heures on tue l'animal par le chloroforme, on sépare son estomac, dont on introduit le contenu, au moyen d'un large entonnoir, dans un petit entonnoir à séparation, on le lave avec de l'eau chaude qu'on ajoute au reste. Après un repos de 24 heures, on trouve l'huile à la surface du liquide. On fait écouler ce dernier, on agite l'huile avec de nouvelle eau chaude, qu'on laisse se déposer et qu'on évacue comme la première. On reprend l'huile par l'éther, qu'on évapore, et on pèse.

En opérant ainsi avec 20 ou 25 grammes d'acide oléique ou d'oléine, MM. Klemperer et Scheurlen n'ont jamais rencontré, entre le poids de la matière introduite, et celui de la matière retrouvée dans l'estomac, de différences supérieures à un ou deux décigrammes, comprises par conséquent dans les limites des erreurs d'une expérience qu'on pouvait même ne pas croire susceptible d'une pareille précision. Cependant l'estomac de l'animal semblait bien dans les conditions normales d'absorption. Le chien allait et venait sans donner de signes sensibles de souffrance. Ce travail bien fait conclut donc que ni l'acide oléique ni l'oléine ne sont absorbés par la muqueuse stomacale en quantités sensibles.

Cette insouciance de l'estomac vis-à-vis de l'acide oléique repousse au second plan la question de la saponification des corps gras neutres dans l'estomac, qui, du reste, comme nous l'avons vu plus haut, reste toujours très bornée. Mais, si faible qu'elle soit, MM. Klemperer et Scheurlen ont cherché à en trouver l'origine et se sont demandé quel rôle pouvaient bien y jouer les bactéries.

J'ai montré, en 1875, qu'elles étaient des agents actifs de décomposition et de saponification des matières grasses au contact desquelles elles vivaient. Il se peut que dans l'estomac, où les microbes ne jouent qu'un rôle effacé, leur action sur les matières grasses soit des plus médiocres. Il y avait, dans tous les cas, un moyen simple et sûr de le savoir. MM. Klemperer et Scheurlen n'avaient qu'à prendre le liquide de lavage stomacal de leur chien, à le neutraliser s'ils voulaient se mettre à l'abri de l'influence concomitante de l'acidité, à le mettre en contact avec de la matière grasse aussi grossièrement divisée qu'elle l'est d'ordinaire dans la pâte chymeuse, et à voir ce qu'il advenait au bout du temps normal de séjour des aliments dans l'estomac. On aurait vu ainsi en action les microbes de l'estomac du chien en expérience, les mêmes en qualité, en quantité un peu moins grande puisqu'on n'enlève pas ainsi ceux qui restent adhérents à la muqueuse, mais on aurait pu se faire quand même une idée de l'importance de l'action des microbes sur le phénomène.

La méthode mise en œuvre par MM. Klemperer et Scheurlen me semble beaucoup inférieure, et on a peine à comprendre que des observateurs qui semblent aussi exercés aient pu s'y arrêter. Ils mélangent de l'oléine avec une gouttelette du résidu de la filtration du contenu d'un estomac, et exposent le tout à l'étuve pendant 3 heures. Ou bien encore ils ensemencent du lait de la même façon. Quand ils opèrent sur l'oléine, ils oublient que cette substance n'est pas fermentescible et ne peut être atteinte que par voie latérale, au moyen des produits ou des réactions que les microbes déterminent dans le milieu environnant ; mais il faut qu'il y ait un milieu. Il y en a un dans l'estomac, c'est la masse alimentaire; il n'y en a pas dans les expériences de MM. Klemperer et Scheurlen. Il est vrai qu'ils en créent un dans leur second mode d'expérience, en ensemençant dans le lait, mais, avec trois heures de contact et un ensemencement aussi peu abondant, on ne saurait comparer les résultats à ceux qui se produisent dans l'estomac d'un animal qui digère.

MM. Klemperer et Scheurlen constatent ainsi qu'en 3 heures il n'y a tout au plus que 1/2 0/0 de l'acide gras de la matière grasse mis en liberté, et comme c'est environ trois fois moins que ce qu'ils ont trouvé dans l'expérimentation sur l'animal vivant, ils concluent à une action saponifiante de la muqueuse seule. Il est clair que cette conclusion repose sur une base expérimentale bien étroite, et comme elle néglige en outre l'action de l'air et celle de l'acidité, pour tout rapporter à la muqueuse, on voit qu'elle est en outre tout à fait flottante et indécise.

MM. Klemperer et Scheurlen terminent par quelques expériences sur l'homme, qui témoignent qu'en ingérant de l'huile dans un estomac humain, il y a au bout de 2 heures 1 à 2 0/0 d'acides gras, et qu'après un plus long séjour le chiffre croît, et peut s'élever à 6 0/0 dans les fermentations actives d'estomacs dilatés. L'interprétation qu'ils ont adoptée semblerait devoir faire attribuer à la muqueuse cette saponification plus énergique que celle de leurs expériences sur le chien. Il nous paraît qu'il est plus prudent de mettre au contraire au premier plan l'action des microbes; mais si MM. Klemperer et Scheurlen, qui ont fait le travail sur ce sujet, n'affirment pas leur conclusion, j'ai encore bien moins de raison d'affirmer la mienne. Je ne me crois que le droit de la donner comme aussi probable que l'autre.

On peut, je crois, conclure de tout ce qui précède que les matières grasses traversent l'estomac à peu près inaltérées. Elles ne font pas un long chemin au delà sans rencontrer le suc pancréatique, chargé, non de les digérer, car l'emploi de ce mot défectueux est à rejeter, mais de les émulsionner. Son rôle sous ce rapport paraissait avoir été bien fixé par les expériences de Cl. Bernard : il était de premier rang. Une récente et curieuse expérience de M. Dastre semble le mettre au niveau de la bile.

On sait que chez le lapin, dont le canal pancréatique s'ouvre dans l'intestin à 30 ou 40 centimètres au-dessous du canal cholédoque, les chylifères ne deviennent lactescents qu'au delà du canal de Wirsung, c'est-à-dire lorsque, imprégnés de bile, ils ont subi l'action du suc pancréatique. La bile seule est donc impuissante à émulsionner les matières grasses, et c'est le suc pancréatique qui est chargé de ce soin. L'expérience de M. Dastre montre que le suc pancréatique seul est tout aussi impuissant que la bile, et qu'il faut le mélange des deux liquides. Cette expérience, qui est la contre-partie de l'expérience classique de Cl. Bernard, se fait en réalisant artificiellement sur un chien, au moyen d'une fistule cholécysto-intestinale, la contre-partie de la disposition naturelle du lapin, c'est-à-dire en faisant déboucher le conduit biliaire dans l'intestin grêle fort au delà du point où vient s'ouvrir le canal pancréatique. Dans tout l'intervalle, les aliments gras ne sont pas émulsionnés, et les chylifères ne sont pas lactescents. L'effet est au contraire très rapide aussitôt que la bile et le suc pancréatique ont superposé leur action. D'où la conclusion qu'ils sont nécessaires tous deux. Mais je ne saurais aller, et je ne crois pas non plus que ce soit la pensée de M. Dastre, jusqu'à admettre qu'ils s'équivalent dans l'action, et que le suc pancréatique doive partager avec la bile son rôle d'agent émulsif des matières grasses. Avec la bile, employée en quelque quantité que ce soit, on ne fait jamais d'émulsion stable; avec le suc pancréatique, au contraire, même en quantite médiocre, l'émulsion est immédiate et persistante. Il a donc un rôle à part.

A quoi tient ce rôle? Pourquoi ne se manifeste-t-il que sur les aliments mélangés de bile ? C'est une question différente de la précédente et qui doit être traitée à part. On peut penser par exemple que l'excès d'acidité que la pâte alimentaire apporte de l'estomac a besoin d'être saturé, au moins en partie, pour que l'émulsion se produise, et que la bile aide le suc pancréatique dans cette neutralisation. Il est certain que l'émulsion se fait beaucoup plus facilement dans un liquide alcalin que dans un liquide acide. Peut-être y a-t-il d'autres influences en jeu. Il y en a de très délicates qui peuvent jouer un rôle. On émulsionne facilement, par exemple, un peu d'huile avec de l'eau distillée légèrement alcaline. Si on prend de l'eau ordinaire, ou de l'eau distillée à laquelle on a ajouté une goutte de chlorure de calcium, et qu'on a ensuite alcalinisée par la potasse, l'émulsion, qui se complique de la formation d'un savon de chaux, est beaucoup moins facile et moins stable. La bile, avec ses sels de soude à acides faibles, pourrait peut-être éliminer l'influence fâcheuse des sels de chaux du chyme. Il faut donc avoir l'œil bien ouvert quand il s'agit d'étudier ce sujet délicat, qui n'est pas épuisé, et promet encore d'intéressantes découvertes.

Dx.

SUR LE ROLE ET LE SORT DU STAPHYLOCOCCUS AUREUS DANS LA PEAU.

REVUE CRITIQUE.

Hohnfeldt. Sur l'histogénèse des abcès du tissu conjonctif, provoqués par l'invasion du Staphylococcus. *Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinem Pathologie*, publiés par *Ziegler* et *Nauwerck*, vol. III, fasc. IV, 1888, p. 345. — Ribbert. Sur la marche de l'inflammation, provoquée dans la peau des lapins par le Staphylococcus aureus. *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1889, n. 6.

D'après les recherches de M. *Hohnfeldt*, faites dans le laboratoire et sous la direction de M. *Baumgarten*, le staphylococcus, aussitôt après son introduction dans le tissu sous-cutané des lapins, provoque des lésions marquées, qui se manifestent déjà, quatre heures après le début de l'expérience, sous forme d'une agglomération de leucocytes, dont plusieurs contiennent déjà des staphylococcus. Parallèlement à la multiplication de ces derniers, le nombre de leucocytes augmente considérablement, et il se produit une infiltration leucocytaire qui se transforme ensuite en véritable abcès cutané.

Les cellules qui constituent cet abcès sont pour la plupart des leucocytes multinucléés, avec des nucléus fortement colorés par les couleurs d'aniline, et proviennent indubitablement des leucocytes du sang, immigrés au lieu d'invasion. Beaucoup de ces cellules contiennent des quantités considérables de staphylocoques, qui se colorent aussi bien que ceux qui se trouvent hors des leucocytes. M. *Hohnfeldt* ne doute pas que les microbes mentionnés n'aient été englobés ou bien ne soient entrés spontanément dans l'intérieur des leucocytes dans un état de vitalité parfaite. Il admet aussi que ces staphylocoques intracellulaires parviennent à tuer les leucocytes, dont il ne reste bientôt plus qu'une espèce de résidu granuleux.

En suivant le développement de l'abcès, on peut constater qu'il est rempli par des grandes quantités de staphylocoques libres, isolés ou réunis en groupes, et par des cellules migratrices plus ou moins dégénérées et réduites en granulations.

Dans sa partie périphérique, l'abcès est entouré d'une capsule limitante, qui ne se forme, du reste, qu'assez tard (vers le dixième jour après l'infection). On aperçoit alors une division karyokynetique dans

les noyaux des cellules du tissu conjonctif et des cellules épithélioïdes nouvellement formées, ce qui annonce le caractère purement réparateur de ce phénomène.

Comme l'abcès, arrivant à la périphérie de la peau, s'ouvre généralement à l'extérieur, l'organisme se débarrasse en même temps des staphylocoques pathogènes ainsi que des cellules mortes et plus ou moins décomposées. M. *Hohnfeldt* n'attribue, dans la destruction des staphylococcus, aucun rôle aux cellules mobiles et pense, au contraire, que ces phagocytes présentent un milieu très favorable à la vie et la multiplication des microbes pyogènes.

En résumé, M. *Hohnfeldt* confirme l'opinion de son maître, M. *Baumgarten*, que la théorie des phagocytes se trouve en désaccord avec les phénomènes pathologiques de la formation des abcès. Tel n'est pas l'avis de M. *Ribbert* qui, de son côté, a entrepris des recherches approfondies sur le même sujet.

Il a suivi d'abord la marche de l'infection en introduisant de petites quantités de staphylocoques dans la peau des lapins. Tandis que M. *Hohnfeld* injectait un demi-centimètre cube d'une émulsion épaisse. M. *Ribbert* se bornait à introduire, dans une coupure de la peau longue de quelques millimètres, un scalpel mouillé d'une émulsion de staphylocoques. A la suite de cette lésion il se formait quelquefois des petits abcès, mais dans la plupart des cas l'affection n'allait pas au delà d'une hyperémie légère et d'une tuméfaction autour de la plaie. L'infection ainsi pratiquée avec des quantités minimes de staphylocoques était toujours suivie d'une guérison, complète au bout de quelques jours, et accomplie notamment à l'aide des phagocytes. Ces derniers, sous forme de leucocytes à noyau multiple et de cellules fixes du tissu conjonctif, s'agglomèrent au lieu d'invasion déjà dès le premier jour et englobent tous les staphylocoques qui laissent bientôt apercevoir des signes évidents de dégénérescence : ils se colorent d'une manière incomplète et montrent des dimensions inégales. Autour de la partie enflammée, et plus tard dans cette partie même, on observe le phénomène kariokynétique réparateur sur un grand nombre de noyaux des cellules du tissu conjonctif et épithélial.

L'introduction de plus grandes quantités de staphylocoques est suivie, d'après M. *Ribbert*, de phénomènes d'un autre genre. L'émigration inflammatoire des leucocytes, ainsi que la production d'abcès, deviennent beaucoup plus considérables, et un grand nombre de phagocytes périssent sous l'influence des microbes. Ces derniers, rassemblés en groupes plus ou moins grands, se trouvent pour la plupart en dehors des petits leucocytes multinucléaires, présentent des signes évidents de mort et deviennent la proie des grandes cellules macrophages (provenant des cellules fixes du tissu conjonctif).

Dans ces cas M. *Ribbert* attribue un rôle restreint aux phagocytes isolés, mais il admet que l'ensemble des leucocytes immigrés forme autour des masses de staphylocoques une barrière infranchissable. Les microbes agglomérés périssent alors, non sous l'influence directe des phagocytes, mais bien à cause d'une action indirecte, notamment à la suite du manque d'oxygène et de nourriture, ainsi que de la présence en quantité considérable des produits toxiques de ces mêmes bactéries.

M. *Ribbert* exprime lui-même l'avis qu'entre la phagocytose proprement dite et l'enveloppement des masses microbiques par un manteau leucocytaire, il se trouve tous les passages intermédiaires, de sorte que les deux phénomènes ne peuvent être rigoureusement séparés. En m'associant à ce point de vue, je saisis l'occasion de rappeler aux lecteurs qui s'intéresseraient à la question des phagocytes, que dans mon article d'introduction (publié dans le recueil de M. *Clauss* en 1883, t. V, p. 156), j'ai fait connaître les deux modifications du processus indiquées plus haut. « Le rôle des cellules amiboïdes mésodermiques, — disais-je, — consiste à dévorer les parties de l'organisme, devenues inutiles, ainsi que les corps étrangers, ou bien, dans les cas où cette solution n'est pas possible, au moins à les envelopper et à les retenir sur place. »

A la fin de son mémoire, M. *Ribbert* aborde la question de l'influence des parties liquides de l'organisme sur les staphylocoques. Après l'introduction de ces microbes dans des parties de la peau enflammées par l'action de l'iode, les staphylocoques se multiplient dans le liquide œdémateux des tissus avec une telle abondance que ni les phagocytes isolés, ni les leucocytes réunis en masse ne peuvent former un obstacle sérieux contre leur invasion. Les staphylocoques pullulent d'une manière surprenante, et, ne trouvant point de résistance suffisante, provoquent la nécrose des parties envahies, mais ils ne sont pas cependant en état de franchir la barrière formée à la limite du tissu sain par les leucocytes arrivés sur place. On voit bien que dans ces cas les liquides accumulés par l'inflammation présentent des conditions très favorables à l'accroissement du microbe envahisseur, et que la guérison n'est possible qu'à l'aide de la formation d'une couche épaisse de leucocytes et de la desquammation de la partie nécrosée.

D'accord avec M. *Hohnfeldt* sur la provenance des cellules du pus et sur le rôle surtout réparateur des cellules fixes du tissu conjonctif, M. *Ribbert* diffère totalement, ainsi que nous l'avons vu, de l'élève de M. *Baumgarten*, au sujet du sort des staphylocoques introduits dans la peau des lapins.

E. METCHNIKOFF.

J. SOUDAKEWITCH. Les fibres élastiques et les cellules géantes. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin*, t. 115, 1889, p. 264.

Le travail intéressant de M. *Soudakewitch* contribue à mettre en lumière le rôle des cellules géantes dans certaines *néoplasies* cutanées, telles que le clou des Sartes et le lupus. Dans les deux maladies, les cellules géantes contiennent souvent des fibres élastiques à différents états de dissolution, ce qui peut être attribué à l'influence digestive de la cellule et ressemble beaucoup aux transformations des fibres pendant leur digestion artificielle.

Englobée par la cellule géante, la fibre élastique perd plus ou moins vite sa capacité de prendre la coloration par l'hématoxyline (d'après les méthodes de *Ranvier* et de *Herxheimer*), elle se gonfle et acquiert des contours crénelés. Peu à peu elle se transforme en un corps stratifié, qui reste logé dans une vacuole plus ou moins grande. Quelquefois la fibre, encore bien colorée, se divise en petits segments, tout à fait comme cela s'observe sous l'action de la putréfaction, de la digestion artificielle ou de certains réactifs chimiques. L'influence des cellules géantes dans la production de tous ces changements des fibres élastiques ressort avec une évidence frappante des cas où ces transformations ne s'observent que dans la partie des fibres englobée par la cellule, tandis que leur partie libre retient la coloration et conserve toutes ses autres propriétés normales.

De ces observations, de l'exactitude parfaite desquelles j'ai pu me convaincre en observant à plusieurs reprises les belles préparations de M. *Soudakewitch*, il s'ensuit que les cellules géantes des deux maladies citées sont réellement aptes à englober des corps solides et à digérer une substance aussi résistante que celle des fibres élastiques. En terminant son article, M. *Soudakewitch* insiste sur l'interprétation des faits que nous venons de relater, mais il s'abstient de se prononcer sur la signification du phénomène de la digestion des fibres élastiques par les cellules géantes. Peut-être que ces dernières, servant comme moyen de défense à l'organisme contre les microbes de la maladie des Sartes et du lupus, et par cela aptes à développer une grande énergie digestive, détruisent aussi les éléments organiques incapables de résister à leur agression [1]. Il est très probable que ce rôle destructif des phagocytes

1. Il faut considérer comme un *lapsus calami* l'expression de M. *Soudakewitch* sur la « lutte mutuelle entre les cellules géantes et les fibres élastiques », les fibres élastiques n'étant point capables de « lutter » comme un élément vivant tel qu'une cellule ou un être indépendant.

s'opère dans bien des cas dans la pathologie. Ainsi plusieurs faits indiquent que la cirrhose du foie est due à la destruction par les phagocytes des cellules hépatiques affaiblies, et que des phénomènes analogues se passent aussi lors du développement des scléroses dans le système nerveux.

METCHNIKOFF.

Dr WYSSOKOWICZ. Sur les inoculations préventives du charbon en Russie. *Fortschritte der Medicin*, n° 1, janvier 1889.

La note que M. Wyssokowicz publie sous ce titre résume les expériences du regretté professeur Cienkowsky sur les inoculations préventives du charbon. Depuis l'année 1883, après un voyage qu'il fit à Paris pour prendre connaissance des procédés d'atténuation du charbon découverts au laboratoire de M. Pasteur, M. Cienkowsky s'est appliqué à préparer des vaccins charbonneux adaptés aux races des moutons de la Russie. M. Wyssokowicz nous dit qu'il y est parvenu après beaucoup de difficultés. Les inoculations préventives faites par M. Cienkowsky, depuis l'année 1885 jusqu'à 1888 inclusivement, ont porté sur 20,310 moutons; la perte moyenne après les deux vaccinations a été de 0,87 0/0. Sur un troupeau de 11,000 moutons, la mortalité qui était en temps ordinaire de 8,5 à 10,6 0/0 est tombée à 0,13 0/0 après la vaccination. Dans une expérience, 13 mois après l'inoculation préventive, 18 brebis sur 20 résistaient à l'action du charbon virulent.

Ces résultats sont tout à fait satisfaisants. Ils prouvent une fois de plus l'efficacité et l'innocuité de la vaccination charbonneuse et sont de nature à faire entrer les inoculations préventives dans la pratique agricole en Russie, M. Cienkowsky a donc rendu un service signalé aux agriculteurs de son pays en les rendant témoins de semblables expériences.

Deux points, dans l'œuvre de M. Cienkowsky, paraissent particulièrement nouveaux et importants à M. Wyssokowicz. C'est d'abord la manière dont le professeur de Charkow a choisi ses virus atténués, virus qui, selon M. Wyssokowicz, « se distinguent considérablement des vaccins français ». Le premier vaccin adopté en Russie tue toutes les souris et un tiers seulement des spermophiles auxquels on l'inocule; le second vaccin fait périr les trois quarts des spermophiles. la moitié des lapins et de 1 à 2 brebis sur 10 qui le reçoivent d'emblée sous la peau.

Nous ne reconnaissons dans cette manière de graduer les vaccins qu'une chose nouvelle, c'est l'emploi du spermophile à la place du cobaye. En effet, en France, où l'on ne connaît pas le spermophile, on se sert

d'un premier vaccin qui tue toutes les souris et ne fait pas mourir les cobayes adultes, et d'un second vaccin qui tue les cobayes et environ la moitié des lapins. Nous ne savons pas si le spermophile est un animal préférable au cobaye pour l'épreuve des vaccins, mais nous voyons que le procédé que vante M. Wyssokowicz est calqué sur le procédé français.

Le second point, qui paraît à M. Wyssokowicz être pour beaucoup dans les succès que M. Cienkowsky a obtenus, est l'emploi de la glycérine pour la conservation des vaccins charbonneux. « Pour conserver les vaccins, Cienkowsky employa comme le meilleur moyen, l'addition de un volume de glycérine purifiée à 30° à deux volumes de culture. Cette addition de glycérine permet de conserver les cultures pendant longtemps sans qu'elles changent de virulence. » Il y a un moyen de conservation des vaccins encore plus simple que celui qui emploie la glycérine, c'est celui, usité à Paris, qui consiste à ne rien leur ajouter du tout, mais à conserver les spores des virus atténués en tubes clos, à l'abri de l'air et de la lumière. Nous pensons que ce procédé est encore plus sûr que celui à la glycérine, qui ne permet pas de conserver sans changements les virus atténués pendant des années.

Pour nous, ce qui distinguerait véritablement les vaccins du charbon obtenus en Russie de ceux préparés en France, c'est la propriété que M. Wyssokowicz fait connaître dans les lignes suivantes : « Des expériences sur une grande quantité de spermophiles et de souris ont démontré que le premier vaccin aussi bien que le second n'étaient pas modifiés dans leur virulence malgré de nombreux passages d'un animal à un autre. » C'est là un fait nouveau, en si complète contradiction avec ce que l'on sait sur le renforcement de la virulence par les passages sucessifs d'un virus à travers un grand nombre d'animaux de la même espèce, qu'il faut en laisser toute la responsabilité à M. Wyssokowicz, d'autant plus qu'un peu plus loin il écrit que les vaccins employés « étaient non des cultures puisées directement dans des vases, mais des cultures passées par une série de spermophiles afin de leur donner une virulence déterminée. Une culture dans du bouillon, ensemencé avec le sang des animaux morts, constituait le vaccin employé ».

Il nous semble qu'il y a contradiction entre ce passage et celui que nous avons cité précédemment. Pourquoi, en effet, faire des passages à travers une série de spermophiles, si l'on a reconnu, tout d'abord, que la virulence des vaccins n'est pas modifiée par ces passages ?

Nous ne voyons pas non plus quel avantage pratique il y a à inoculer chaque fois un spermophile pour prendre dans son sang la semence nécessaire à une nouvelle culture. Il nous paraît plus commode de conserver les semences en tubes clos comme nous l'avons dit plus haut.

Après avoir rapporté que sur 34 chevaux vaccinés par M. Cienkowsky aucun n'avait éprouvé de malaise, M. Wyssokowicz ajoute : « Ce résultat des vaccinations russes est opposé à celui des vaccinations françaises, car en France, d'après la note de M. Chamberland, on ne vaccine plus de chevaux à cause des maladies survenues à la suite des inoculations. » Remarquons d'abord que le nombre de 34 chevaux vaccinés est beaucoup trop faible pour que l'on puisse tirer une conclusion sur la valeur pratique des vaccins employés sur ces animaux.

En effet, pendant l'année 1886, 129 chevaux ou mulets furent inoculés en France sans aucun accident. Si l'on s'en tenait à ce chiffre, près de quatre fois plus fort que celui cité par M. Wyssokowicz, on pourrait dire que la vaccination des chevaux ne présente aucun inconvénient. Cependant, dans une pratique plus étendue, on a observé parfois des œdèmes considérables après les vaccinations. Les vaccins français ne sont pas cependant aussi dangereux pour les chevaux qu'on pourrait le croire à la lecture de la phrase de M. Wyssokowicz; sur 2,769 chevaux ou mulets inoculés en France, dans les années 1882, 1883, 1884, 1885, 1886, la mortalité, tant après les vaccinations que dans l'année qui a suivi, a été de 23 animaux, soit de 0, 8 0/0. De plus, il n'est pas exact que M. Chamberland ait écrit « que l'on ne vaccine plus les chevaux à cause des maladies qui suivent les vaccinations. M. Chamberland [1] écrit : « Après avoir observé chez les chevaux plusieurs œdèmes très volumineux, nous avons recommandé, vu la faible mortalité qui existe en France sur les chevaux, de ne les vacciner que dans les cas urgents, par exemple lorsqu'une épidémie charbonneuse s'est déclarée dans une ferme ou une localité quelconque. » Le texte de M. Chamberland n'est pas tout à fait le même que celui que lui prête M. Wyssokowicz.

Puisque nous en sommes à la vaccination des chevaux contre le charbon, disons, que les méthodes du laboratoire de M. Pasteur permettent de préparer des vaccins efficaces et inoffensifs pour les animaux. Cela a été réalisé pour plusieurs expériences, mais, à cause de la rareté du charbon chez les chevaux, on n'a pas conservé dans la pratique ces virus spéciaux, et on a inoculé les équidès avec les vaccins employés pour les moutons et les bœufs et qui ont produit parfois des œdêmes.

De la note de M. Wyssokowicz il ressort que les efforts de M. Cienkowsky ont été couronnés de succès, et que le professeur de Charkow a réussi à préparer des vaccins charbonneux d'un emploi pratique. C'est là un résultat que M. Wyssokowicz a bien fait de

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 juin 1887.

signaler à l'attention. Mais il nous semble qu'il aurait mieux servi l'œuvre de M. Cienkowsky en l'exposant simplement, sans déprécier les méthodes du laboratoire de M. Pasteur qui sont les sources où M. Cienkowsky a puisé, et qui depuis 1881 ont fait leurs preuves non pas sur quelques milliers, mais sur des centaines de milliers d'animaux D'ailleurs, ce que M. Wyssokowicz loue le plus dans les travaux qu'il rapporte ne nous paraît pas toujours ce qui mérite le plus d'être loué.

Dr Roux.

J. Rosenthal. Recherches sur la présence des microorganismes dans les tumeurs, particulièrement dans les carcinomes. *Zeitschr. f. Hygiene*. t. V. p. 161.

Nous avons déjà (V. t. II, p. 84), résumé ce qu'on savait l'an dernier, à pareille époque, sur le bacille du cancer, et exprimé au sujet des résultats du travail de M. Scheurlen des doutes qui à ce moment pouvaient paraître audacieux, mais qui ont été légitimés par toutes les constatations faites depuis. On admet assez généralement aujourd'hui que le microbe de Scheurlen n'est pas la cause du cancer, mais il reste à comprendre comment ce savant avait pu trouver aussi souvent, soit au microscope, soit dans ses ensemencements, des microbes dans les tissus cancéreux. Y avait-il là de grosses fautes de technique? ou bien l'observateur était-il excusable de s'être trompé?

Le travail de M. Rosenthal, fait sous la direction de M. Baumgarten, répond en partie à cette question, en montrant que des tumeurs malignes, et même des tissus sains, étudiés avec toutes les précautions antiseptiques et la technique la plus rigoureuse, peuvent parfois contenir des microbes. Voici en effet les divers points qui ressortent de ce travail.

On peut trouver des organismes dans le tissu d'une mamelle saine. Ceux-ci y pénètrent d'autant plus facilement de l'extérieur que le tissu est devenu plus lâche à la suite d'une irritation quelconque.

Le bacille de Scheurlen n'est pas spécial aux carcinomes; on le trouve dans les néoformations les plus variées.

Par aucune des méthodes bactériologiques connues jusqu'ici, on ne le trouve dans tous les carcinomes.

On peut constater sûrement, par la méthode des cultures sur plaques, qu'en outre de ce bacille, le carcinome contient encore d'autres microbes.

L'opinion de Senger, et d'autres auteurs, qui attribuent le bacille décrit par Scheurlen à l'introduction d'une impureté venue de l'extérieur, est contredite par l'expérience des cultures sur plaques, qui démontre que pendant la vie il y a déjà des bactéries dans les néoformations. Ce bacille semble, du reste, fort rare dans l'air.

On trouve sur la peau des saprophytes qui ont toutes les propriétés du bacille de Scheurlen (prolifération misérable sur la gélatine, abondante sur le sérum, la gélose, la pomme de terre; formation d'une pellicule superficielle caractéristique, etc.); ce saprophyte a été déjà décrit par Bizzozero et Bordoni Uffreduzzi sous le nom de Leptothrix ou de *Bacillus epidermidis*.

Ce qui conduit encore à identifier ce bacille avec celui de Scheurlen, c'est que l'on ne trouve ce dernier que dans les néoformations voisines de la peau, et qu'on ne l'a jamais rencontré dans les carcinomes de l'estomac, du foie, du diaphragme et du rectum.

Si on ajoute à cela que les tentatives d'inoculation du bacille sont restées douteuses entre les mains de Scheurlen, et ont échoué entre celles de Senger, on conclura que le bacille de Scheurlen n'a pas le rôle pathogène qui lui a été attribué, et n'est pas la cause du cancer.

Telles sont les conclusions de M. Rosenthal. Elles sont tellement nettes et précises qu'on est tenté de les adopter sans examen. Mais d'un autre côté, elles sont aussi tellement en désaccord avec ce que l'on sait, ou ce que l'on croit savoir, qu'on est tenté de leur témoigner de la méfiance. Comment se fait cette pénétration des microbes au travers de la peau, lorsque, comme dans la plupart des expériences de M. Rosenthal, celle-ci était restée saine? et puis le nombre de ces expériences n'est pas grand! et les erreurs y sont si faciles! Le lecteur, dérouté par l'imprévu des résultats, et n'osant ni croire, ni ne pas croire, aimerait à trouver dans ces cas des expériences de contrôle, c'est-à-dire par exemple, dans le mémoire de M. Rosenthal, des expériences dans lesquelles on aurait ensemencé, comparativement avec la tumeur, avec les mêmes précautions, des fragments de tissus sains, du même animal, et cela sans résultat. Faute de cela, il est obligé, comme nous le faisons ici, de marquer les curieux résultats de M. Rosenthal d'un point d'interrogation que de nouveaux travaux feront peut-être disparaître. Dx.

Buchner. Sur la question de la présence des bactéries dans les tissus normaux des plantes. *Munch. med. Wochensch.*, 1888, p. 906.

Dans un récent article (V. t. II de ces *Annales*, p. 621), sur un travail de M. Bernheim relatif à l'existence des microbes dans le tissu normal des végétaux, nous avions fait quelques réserves, non au sujet de la technique suivie par ce savant, qui théoriquement est irréprochable, mais au sujet de sa façon de raisonner et de travailler, qui prêtait, croyons-nous, le flanc à la critique. Le récent travail de M. Buchner nous paraît démontrer que nous avions eu raison, car en répétant les expériences de M. Bernheim, ce savant n'a obtenu que des

résultats négatifs, et constamment, sauf dans quelques cas sporadiques, les ensemencements de fragments de végétaux et de graines sont restés stériles. Mais ce travail relève, en outre, une erreur d'interprétation qui a son importance, car elle a sans doute sévi ailleurs.

M. Bernheim avait été conduit à localiser dans l'endosperme les bactéries des graines, parce que chacun des fragments de cet endosperme, introduit dans la gélatine nutritive, s'y entourait, au bout de quelques heures, d'une auréole blanche et transparente, à contours mal limités, qui s'épaississait peu à peu en liquéfiant la gélatine. M. Bernheim n'avait pas hésité à la croire formée de bactéries.

M. Buchner a bien vu l'auréole se former, mais n'a jamais constaté qu'elle augmentât de volume. En la regardant au microscope, il la vit formée de grains brillants d'une substance fortement réfringente. Comme elle reste stérile quand on l'ensemence dans un nouveau milieu, comme on la voit se former dans un milieu rendu stérile par du thymol, comme elle se forme autour de particules d'endosperme chauffées à 160°, il n'est pas possible de l'attribuer à des bactéries. Elle est faite, dit-il, de gouttelettes grasses, chassées sans doute des cellules brisées par des phénomènes d'endosmose, et se diffusant jusqu'à une certaine distance dans la gélatine chaude et encore liquide. On l'obtient en quelques minutes en portant un instant à l'ébullition la gélatine avec des fragments d'endosperme, et en la refroidissant aussi vite que possible, sans l'agiter, sous un courant d'eau. Si on l'observe de préférence avec l'endosperme, c'est que le tissu de cet organe est plus riche en matière grasse que le tissu environnant.

Dans une note plus récente [1], M. Lehmann confirme les conclusions de M. Büchner relativement à l'absence des microbes dans les tissus. Il dit seulement que l'auréole n'est pas faite de gouttelettes grasses, mais de sels précipités, solubles dans les acides, tels que le serait du phosphate de chaux.

Dx.

1. *Munch. med. Woch.*, 12 février 1889.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de la rage.

Ray (Ernest), 7 ans, d'Oissel (Seine-Inférieure). Mordu par un chien le 13 décembre 1888. On compte 7 morsures réparties sur la joue droite, ces morsures sont pénétrantes, ont donné beaucoup de sang. Une de ces plaies a nécessité une suture des lambeaux. Sur la joue gauche, une morsure allant de l'aile du nez à la commissure des lèvres ; la plaie a été fermée par quatre points de suture. Sur la lèvre supérieure, une morsure ayant traversé la lèvre et nécessité une suture. En tout 9 morsures. Ces blessures ont été lavées à l'alcool camphré six heures après qu'elles ont été faites

Le chien mordeur, reconnu enragé par M. Philippe, vétérinaire, avait été mordu par un chien inconnu, poursuivi comme enragé.

Ray a été mis en traitement 4 jours après les morsures. Il a été traité du 27 décembre au 6 janvier. Pris de rage, il a succombé le 4 mars.

Mahout (Édouard), 8 ans, à Levallois-Perret (Seine), Mordu le 31 janvier 1888 à l'aile gauche du nez et à la paupière inférieure gauche. Ces deux blessures ont saigné. Aucune cautérisation. Le chien mordeur a été reconnu enragé par M. Latour, vétérinaire.

Mahout a été traité du 3 au 24 février. Le 6 mars 1889, l'enfant se plaint de mal de gorge. Un médecin appelé constate une angine. Le 8 février, l'aérophobie et l'hydrophobie apparaissent et la mort survient le 9 février.

Personnes prises de rage dans le cours du traitement.

Arenés (Gilles), 50 ans, de Soler (Pyrénées-Orientales). Mordu à la lèvre supérieure, un peu à gauche, le 26 janvier. La lèvre est traversée dans toute son épaisseur par deux blessures qui ont beaucoup saigné. Aucune cautérisation.

Arenès a été mis en traitement le 29 janvier. Le 18 février, il paraît triste et abattu. Le changement survenu dans son attitude est surprenant, il ne parle presque plus. Le 20 il se plaint de mal de tête ; le 22 il est très excité, dans la journée il a de la difficulté à boire ; il est conduit l'Hôtel-Dieu. Tous les symptômes de la rage convulsive s'accusent de plus en plus; il meurt le 24 février.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE [1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — FÉVRIER 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	»	1	»	1	1	»	»	»
Morsures à la tête et à la figure — multiples	»	1		»	»		»	»	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	1	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	»	»	»	»	»	»
Morsures aux mains — simples	»	18	37	»	24	55	»	2	8
Morsures aux mains — multiples	»	19		»	31		»	6	
Cautérisations efficaces	2	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	10	»	»	12	»	»	4	»	»
Pas de cautérisation	25	»	»	43	»	»	4	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	4	12	»	19	32	»	4	9
Morsures aux membres et au tronc — multiples	»	8		»	13		»	5	
Cautérisations efficaces	1	»	»	6	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	4	»	»	15	»	»	3	»	»
Pas de cautérisation	7	»	»	11	»	»	5	»	»
Habits déchirés	12	»	»	29	»	»	9	»	»
Morsures à nu	»	»	»	3	»	»	»	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	2	2	»	2	2	»	1	1
Cautérisations efficaces	»		»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	2	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	2	»	»	»	»	»	1	»	»
Habits déchirés	2	»	»	1	»	»	1	»	»
Morsures à nu	2	»	»	2	»	»	1	»	»
Totaux. — Français et Algériens	..	45	52	..	83	90	..	16	18
Totaux. — Étrangers	..	7		..	7		..	2	
		A			B			C	
TOTAL GÉNÉRAL					160				

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 153 fois ; chats, 5 fois ; vaches, 2 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. AVRIL 1889. N° 4

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

NOTE SUR L'EXAMEN MICROBIOLOGIQUE D'UNE SOURCE DE LA RÉGION CALCAIRE DU HAVRE,

Par M. L. THOINOT.

Les sources qui alimentent la ville du Havre se répartissent en deux groupes :

1° Les sources naissant de la côte d'Ingouville, sources dites de Sanvic, Lockhart, Quesnel et Belle-Fontaine ;

2° Les sources de Catillon (ou Saint-Laurent), situées sur la commune de Saint-Laurent de Brévedent, à 10 kilomètres du Havre. Ces sources sont amenées à la ville en conduite forcée, à haute pression.

Les sources de Catillon sont de beaucoup les plus importantes : elles fournissent à l'ensemble de la ville; les autres sont de faible débit, et n'alimentent que quelques bornes-fontaines.

Mais l'origine géologique de toutes ces sources (sources de Catillon ou sources de la côte d'Ingouville) est la même, et voici, d'après une note que nous devons à l'obligeance de M. Jacquot, inspecteur général des mines en retraite, membre du Comité consultatif d'hygiène, la structure du terrain qui contient les nappes aquifères :

1° A la surface des plateaux s'étend le *limon de Picardie*, couche perméable ;

2° Au-dessous est l'*argile à silex;* mais cette couche, *franchement imperméable*, n'est pas continue : on la voit descendre sous forme de puits dans le massif de craie auquel elle est superposée, tandis que sur d'autres points ce massif de craie remonte jusqu'au limon;

3° Au-dessous de l'argile à silex, on constate la présence des divers étages du terrain crétacé qui, dans l'ordre descendant, sont :

a) La *craie blanche;*

b) La *craie marneuse ;*

c) La *craie glauconieuse ;*

d) Enfin, *le gault.*

Les trois assises supérieures du terrain crétacé étant perméables, et l'argile du gault au contraire imperméable, c'est à la face supérieure de cette dernière couche qu'est placée la nappe aquifère [1].

A la suite d'une enquête que mon cher maître M. le professeur Brouardel et moi avons poursuivie au Havre sur les causes d'une violente épidémie de fièvre typhoïde, qui fit, en 1887-1888, 697 victimes (409 décès. soit 365 pour 100,000 habitants en 1887, et en 1888, 288 décès, soit 250 pour 100,000 habitants), nous avons été amenés, par une critique très serrée des faits, à rapporter la genèse de l'épidémie à la pollution de la source de Catillon : vers la fin des années 1886 et 1887, les cultivateurs du plateau de Gainneville, qui recouvre la nappe aquifère de Catillon, avaient, pour la première fois, fumé leurs terres *avec des tinettes venues du Havre.*

Or, le plateau de Gainneville est à la cote 88, l'émergence des sources à la cote 39; admettre une décharge des bacilles typhiques répandus à la surface du plateau dans la nappe souterraine, était donc admettre que les microbes pathogènes avaient pu traverser sans être arrêtés quarante-huit mètres de terrain, c'est-à-dire une masse qui passe pour protéger sûrement les nappes aquifères contre toute contamination venant de la surface. C'était là une objection grave contre notre donnée étiologique.

A vrai dire, le calcaire n'inspire pas une confiance absolue

1. A Saint-Laurent, cette nappe est reportée un peu plus haut, à la base de la craie marneuse, mais cette différence n'a aucune importance.

à tous. Il est souvent fissuré, et l'eau y circule alors le long des fentes, où elle ne subit pas la filtration capillaire qui serait nécessaire pour la débarrasser de ses germes; aussi beaucoup de savants croient assez peu, à *priori*, à l'efficacité de la protection des sources par le calcaire, même en grande épaisseur.

La découverte du bacille typhique dans l'eau de Saint-Laurent prise au griffon eût levé tous les doutes; mais, à l'époque où nous faisions notre enquête (fin de 1888 à février 1889), l'épidémie était éteinte, et pareille recherche devait être et a été, en effet, infructueuse.

Il existait une façon différente, mais aussi rigoureuse de résoudre le problème : c'était de se demander si ces eaux de source, prises à leur point de naissance, avant d'avoir subi aucune contamination extérieure, étaient pures de germes vivants. Si l'expérience y décelait des germes de microbes, il n'y avait plus nulle difficulté pour admettre que des bacilles typhiques, versés en si grande quantité sur le plateau, aient pu, comme ces germes, passer dans la nappe sans être arrêtés par un sol qui se comportait en filtre défectueux.

Par malheur, la source de Saint-Laurent se prêtait mal à une expérience rigoureuse, à l'abri de toute objection, et voici pour quelles raisons :

1° L'eau de Saint-Laurent émerge sous des tunnels de $1^{m},20$ de haut, de 2 mètres de long, où elle est de tous côtés en contact avec l'air ambiant, plus ou moins pur, mais naturellement non exempt de germes; en outre, on ne saurait pénétrer dans ces tunnels qu'en marchant dans l'eau, en la souillant, par conséquent. De plus, elle est accessible aux animaux venus de l'extérieur.

2° A partir du plateau de Gainneville jusqu'à l'émergence des sources, le terrain s'abaisse en pente douce, de telle sorte que la nappe se trouve, jusqu'au point où elle vient au jour, protégée par une hauteur de terrain de plus en plus faible, et, par conséquent, exposée à des pénétrations de plus en plus faciles. Les germes que nous aurions pu trouver dans l'eau, prise au griffon, ne pouvaient donc être rapportés sûrement à la pénétration des eaux au travers de la masse du terrain crétacé du plateau de Gainneville.

Mais la source dite de Sanvic, source naissant du coteau

d'Ingouville, réunit toutes les conditions requises pour une expérience aussi délicate :

a) Son origine géologique est de tous points semblable à celle de l'eau de Saint-Laurent ;

b) Elle naît au fond d'un tunnel de 80 mètres de profondeur, *maçonné* dans toute son étendue et *fermé* à son entrée. Là, elle émerge d'une excavation oblique de haut en bas, d'arrière en avant, où elle peut être recueillie profondément, avant qu'elle ait vu le jour, c'est-à-dire à l'abri de toute contamination extérieure (en admettant même que l'air de ce tunnel profond, où nul ne pénètre, renferme des germes).

c) Enfin, elle est directement recouverte par un massif de 20 à 30 mètres de hauteur, car la source de Sanvic n'est qu'un emprunt fait artificiellement à la nappe aquifère même du coteau d'Ingouville, nappe qui fournit plus à l'est, et de la même façon, les sources de Quesnel, Lockhart et Belle-Fontaine.

C'est donc en réalité sur la nappe souterraine même du coteau d'Ingouville, nappe profonde, contenue dans le massif de craie du coteau, que nous avons opéré, condition éminemment favorable. Les résultats obtenus dans ces conditions, si d'autre part l'opération est conduite avec toutes les précautions requises, peuvent être considérés comme absolument probants et certains.

Pour la source de Sanvic, comme pour toute la nappe d'Ingouville, les éléments de contamination sont :

L'épandage de tinettes, d'eaux ménagères, etc., sur la terre superficielle *du plateau* dans les jardins cultivés.

La présence de quelques *bétoires*, c'est-à-dire de trous non maçonnés, creusés directement *à la superficie du plateau*, de puisards en d'autres termes, recevant matières fécales et eaux ménagères.

Sur le conseil de M. Brouardel, nous avons entrepris l'examen microbiologique de la source de Sanvic.

Pour recueillir l'eau de la source, nous l'avons aspirée dans des pipettes Chamberland. préalablement stérilisées à 170° pendant deux heures. L'effilure de la pipette plongeait aussi avant que possible dans l'excavation d'émergence.

Trois pipettes ont été ainsi remplies, que nous désignerons par les lettres A, B, C, et les expériences ont été aussitôt commencées au laboratoire de M. Nocard, avec les conseils, et sous

la direction de ce maître que nous remercions vivement ici.

I. La première pipette A a servi à faire une expérience qualitative. Elle a servi à ensemencer deux matras renfermant du bouillon de dinde peptonisé, et l'une des branches d'un tube à vide, dont l'autre branche contenant du même bouillon est restée comme témoin. Le tout a été placé à l'étuve à 37°. Les deux matras à air se sont peuplés après 24 et 48 heures ; la branche ensemencée du tube à vide après 4 jours. La branche non ensemencée est restée stérile.

Les matras à air nous ont donné une culture pure d'une petite bactérie, courte, très mobile, se colorant bien par les couleurs d'aniline, ne prenant pas la coloration de Gram, et liquéfiant la gélatine ensemencée d'une façon toute spéciale. C'est une liquéfaction en entonnoir avec creusement de la gélatine à la partie supérieure, qui rappelle un peu la liquéfaction par le bacille virgule de Koch.

Sur les plaques de gélatine, les colonies de ce microbe se montrent avec un centre jaunâtre, saillant; autour de ce centre, la colonie est blanche, tomenteuse, et la bordure de la colonie est souvent constituée par un cercle granuleux.

Désignons cette bactérie par la lettre α.

Le tube à vide contient dans sa branche ensemencée un bacille qui tantôt reste court, tantôt s'allonge démesurément, les articles se plaçant bout à bout.

Semé à l'air, cet organisme donne au bouillon du matras qui le contient une coloration verte très marquée. Semé en strie dans la gélatine, il la liquéfie en creusant fortement la traînée d'ensemencement. La culture blanc-verdâtre se ramasse au fond du tube, et toute la gélatine non liquéfiée se colore d'une façon intense en vert-clair. Semé en piqûre, il liquéfie très lentement, et sous la forme d'une cupule, la gélatine qui prend une couleur verte. Désignons cet organisme par la lettre β.

Des expériences, plusieurs fois répétées, nous ont montré que la bactérie α vivait aussi bien dans les cultures à l'abri de l'air, que dans les cultures faites en présence de l'air.

La bactérie α n'est pas pathogène, au moins pour le lapin, le cobaye, le pigeon, inoculés sous la peau.

La bactérie β n'est pas pathogène, au moins pour le cobaye.

II. L'expérience avec la pipette B a été conduite d'une façon différente.

Dans un ballon G contenant 100^{cc} d'eau parfaitement stérilisée, on a introduit et mélangé 5^{cc} du contenu de B, et 10 matras Pasteur contenant du bouillon de veau simple ont été ensemencés purement, chacun avec 1^{cc} de ce mélange. Dans le ballon G, on a introduit du bouillon de veau peptonisé, et le tout a été porté à l'étuve.

Après 24 heures, le contenu de G était trouble; l'examen et l'ensemencement en piqûre dans la gélatine nous ont montré qu'il contenait la bactérie α.

Après 72 heures, 4 seulement des 10 matras se sont troublés; les 6 autres sont restés limpides jusqu'à la fin de l'expérience.

Ces 4 matras contiennent le même organisme, une bactérie γ dont les caractères sont assez spéciaux : l'ensemencement en gélatine donne une culture blanche s'étalant à la surface, poussant peu dans la profondeur; l'ensemencement en stries donne une traînée d'un bleu azuré dans les premiers jours, blanchissant ensuite, à bords festonnés; la colonie sur la gélatine étalée est, après quelques jours, bien voisine comme apparence de la colonie du bacille d'Eberth : même transparence bleue, même aspect tomenteux, mêmes contours frangés : le centre est seulement un peu jaunâtre.

L'analogie des colonies était si frappante entre cette bactérie γ et le bacille de la fièvre typhoïde, que nous avons ensemencé à deux reprises une colonie de γ sur pomme de terre; cet ensemencement a donné rapidement une culture brun-fauve, ce qui sépare nettement notre bactérie γ et le bacille typhique.

La bactérie γ est courte, trapue, mobile, et ne prend pas la coloration de Gram. Elle vit parfaitement dans les bouillons à l'abri de l'air. Elle n'est pas pathogène, au moins pour le cobaye.

III. L'expérience faite avec la pipette C a été conduite comme la précédente en tout, sauf en ceci, qu'au lieu d'introduire dans les 10 matras Pasteur 1^{cc} de la dilution de l'eau suspecte, on n'en a introduit que 4 gouttes, représentant environ deux dixièmes de centimètre cube.

Au bout de 48 heures, le ballon contenant la dilution a commencé à se troubler, et aussi 5 matras sur 10. Le trouble a

augmenté ensuite, et la culture est devenue abondante. Quatre nouveaux matras se sont ensuite troublés, mais seulement du 3e au 4e jour après l'ensemencement; le dixième est toujours resté stérile.

L'aspect de la culture dans les matras est bientôt uniforme, il s'est développé dans tous une coloration vert sale très marquée.

L'examen de la culture nous a montré une bactérie δ mobile, courte, peu épaisse, s'allongeant parfois par la disposition bout à bout de 3 à 4 articles.

Semé en piqûre dans la gélatine, cet organisme la liquéfie progressivement et beaucoup plus énergiquement que la bactérie β, en commençant par la partie supérieure; la partie liquéfiée prend la coloration vert pâle.

Semé en stries sur la gélatine, le microbe donne une culture liquéfiant avec rapidité la strie d'ensemencement, et toute la partie étalée de la gélatine; la gélatine liquéfiée se colore en vert pâle. Rappelons ici que la bactérie β liquéfie lentement la gélatine, et donne à la partie non liquéfiée une coloration verte très remarquable.

La bactérie δ vit parfaitement dans les bouillons à l'abri de l'air [1].

En résumé, aucun des trois échantillons recueillis avec pureté au point d'émergence de cette source n'était pur de micro-organismes, et en faisant servir à des expériences de numération les essais II et III, qui, sans avoir été faits spécialement dans ce but, peuvent pourtant nous donner à ce sujet un renseignement assez approximatif, on trouve que dans l'essai II il y avait au moins 4 germes dans 10/105 de cent. cube de l'eau expertisée, soit 42.000 germes par litre. Dans l'essai III on trouve de même qu'il y avait au moins 470,000 germes par litre.

Chaque fois nous avons pu isoler dans nos cultures un organisme différent, et nous sommes arrivés à caractériser ainsi quatre bactéries α, β, γ, δ, toutes aussi nettement *anaérobies*

1. On sait qu'on trouve communément dans l'eau de rivière deux bactéries poussant dans les milieux de culture avec une réaction chromogène verte. L'une de ces bactéries liquéfie la gélatine et l'autre non. Il se peut qu'une de nos deux bactéries β ou δ soit analogue au *vert d'eau liquéfiant*. Nous ne nous sommes pas arrêtés à établir ce point, qui n'a dans l'espèce aucune importance.

qu'*aérobies*. Il est infiniment probable que ces organismes n'étaient pas les seuls dans les échantillons d'où nous les avons retirés, mais que, plus abondants que les autres, ils se sont développés au détriment de ceux-ci.

Quelque imparfaites qu'aient été nos recherches, elles ont mis en évidence le point suivant : *une source sortant du terrain crétacé, tel qu'il se comporte dans la région du Havre, peut être impure à son émergence.*

Il est donc certain que le terrain crétacé est parfois un filtre imparfait, et que même une forte épaisseur de ce terrain (à Sanvic la hauteur au-dessus de la source est de 20 à 25 mètres) ne saurait fournir aux nappes souterraines qu'une protection illusoire contre les agents pathogènes déposés sur la surface du sol, où les colonnes de craie viennent puiser l'eau météorique.

Ce résultat nous semble de nature à inspirer quelques salutaires réflexions à certaines municipalités françaises, et à leur apprendre que c'est une fâcheuse pratique que de transformer en un champ d'épandage de matières fécales les plateaux qui surmontent les nappes souterraines qui alimentent leurs villes, dans les régions où les terrains d'alimentation de ces nappes sont des terrains crétacés, de nature aussi imparfaitement filtrante que le terrain de la région havraise.

DEUX CAS DE TUBERCULOSE BACILLAIRE CONGÉNITALE

Par E. MALVOZ et L. BROUWIER [1]

L'opinion est bien près d'être unanime aujourd'hui : le bacille tuberculeux, au même titre que la bactéridie du charbon, *peut*, dans certaines circonstances, être transporté de la mère au fœtus à travers l'organe placentaire. Mais on est loin d'être d'accord sur la part qu'il convient d'accorder à l'infection intra-utérine et à la contagion après la naissance dans la fréquence de la tuberculose dite héréditaire.

Les uns admettent, sur la foi des expériences bien connues de *Landouzy* et *Martin*, que l'infection parasitaire de la mère au fœtus par le sang est en réalité fréquente ; d'autres, au contraire, croient que cette contamination utérine directe est rare : pour ceux-ci, le produit issu de sujets tuberculeux possède seulement, par *hérédité de terrain*, tout ce qu'il faut pour offrir au parasite spécifique une fois ingéré, (et que de causes multiples d'infection n'existe-t-il pas autour de lui !) les meilleures conditions de développement et de multiplication.

Au Congrès de la tuberculose, la question ne pouvait manquer d'être agitée de nouveau. Le professeur Landouzy s'est prononcé, plus énergiquement que jamais, en faveur de l'hérédité directe du bacille de Koch, non seulement par voie placentaire, mais même par l'ovule et le sperme ; les conclusions de *Galtier*, basées sur des expériences chez les animaux, ont été au contraire infiniment plus réservées. Nous avons toujours pensé, pour notre part, que la phtisie pulmonaire commune n'est pas due *habituellement* à une infection congénitale par le sang venu du placenta, et voici pour quelles raisons. Dans la maladie tuberculeuse, les choses ne se présentent pas de la même façon que dans les véritables infections du sang. Le sang n'est pas l'habitat

1. Travail du laboratoire d'anatomie pathologique de Liège.

naturel du bacille de Koch. Dans une étude sur les conditions anatomiques de l'hérédité de la tuberculose [1], le professeur *Firket* a nettement mis ce fait en lumière : « Dans plus de la moitié des cas de phtisie vulgaire, les signes anatomiques d'une infection bacillaire du sang font défaut, le malade succombe aux progrès de la tuberculose pulmono-digestive, les lésions s'étendent à quelques ganglions et souvent au foie, par la veine-porte, mais on ne les observe pas dans le domaine de la circulation générale. » Or, pour que le fœtus soit atteint, il est de toute nécessité que le sang soit envahi par les agents parasitaires. A cet égard, puisqu'il paraît certain que le micro-organisme virulent n'existe qu'exceptionnellement dans le sang, le fœtus se trouve bien plus protégé vis-à-vis du bacille tuberculeux qu'il ne l'est dans des maladies comme le charbon, la variole, les septicémies, dont les parasites sont charriés continuellement par le sang. De plus, il semble démontré [2] que si les bactéries pénètrent, dans certains cas, jusqu'à l'embryon, ce n'est pas par le fait d'une simple filtration à travers les villosités du chorion, mais par une véritable effraction, grâce aux lésions déterminées par les parasites dans les barrières cellulaires du placenta.

Il y a donc là un ensemble de circonstances qui s'opposent, dans une certaine mesure, au passage du bacille tuberculeux à l'embryon. En fait, l'existence de lésions tuberculeuses à la naissance est tout à fait exceptionnelle ; de plus, ainsi que le remarque encore Firket, la prédilection parfaitement établie de la tuberculose pour le poumon est en contradiction avec l'hypothèse de l'infection congénitale par le placenta : le poumon fœtal ne reçoit qu'une faible partie du sang de la veine ombilicale, qui va presque entièrement au foie.

C'est en se basant sur ces diverses considérations que l'un de nous a cru pouvoir soutenir, au récent congrès tenu à Paris, que si l'hérédité directe du germe lui paraissait démontrée dans certains cas, ce mode de contagion lui semblait être l'exception. Le professeur *Bang*, de Copenhague, n'a pas partagé cette opinion : il a déclaré s'être livré à une enquête auprès de vétérinaires danois, et

1. Revue de médecine, 1887.

2. *E. Malvoz.* Transmission intraplacentaire des micro-organismes. V. ces *Annales*, mars 1888.

avoir appris de ces derniers que la tuberculose congénitale du veau était, en réalité, beaucoup plus fréquente qu'il ne l'avait pensé lui-même.

Tel est l'état actuel de cette question, dont on ne peut méconnaître l'intérêt majeur, tant au point de vue doctrinal que pratique. On aura beau accumuler les considérations *a priori*: le meilleur, le seul moyen d'arriver à une solution définitive, c'est de multiplier les expériences, et d'étudier avec la plus grande attention, en les discutant, les observations cliniques.

Pour ce qui concerne ces dernières, on a bien, dans l'espèce humaine, les cas souvent cités de *Merkel* et *Charrin*, les observations récentes de tuberculose externe congénitale de *Lannelongue*. On connaît, en médecine vétérinaire, un peu plus d'exemples de tuberculose du fœtus ou de l'animal nouveau-né chez l'espèce bovine [1]; mais ces faits sont en somme exceptionnels, puisque, au dire de *Johne* et *Lydtin*, on n'en a vu que quatre cas sur 154,000 veaux abattus en quatre ans à Berlin, et à Munich guère davantage.

Mais jusqu'en 1885, il a manqué, pour parfaire la preuve de l'hérédité vraie du germe tuberculeux dans les exemples cités à l'appui de cette thèse, la constatation des bacilles de Koch au sein des altérations observées. Il ne suffit pas, en effet, pour entrainer la conviction, d'affirmer que l'on a observé chez un nouveau-né telle ou telle lésion dite tuberculeuse, grisâtre ou jaunâtre, caséeuse ou crétacée : l'histoire des pseudo-tuberculoses parasitaires est déjà assez bien faite aujourd'hui pour qu'il y ait lieu de tenir toujours le plus grand compte de la possibilité de cette cause d'erreur dans l'appréciation d'une lésion. Dans les observations de tuberculose, dite congénitale, citées par les auteurs, il n'est pas démontré qu'il s'agissait bien de vraies lésions dues au bacille de Koch : la preuve suffisante et nécessaire, cela est certain, n'a pas été fournie. A notre connaissance, cette lacune n'a été comblée qu'une seule fois jusqu'à présent, par *Johne* [2], qui a bien décrit des lésions tuberculeuses avec présence des bacilles de Koch, dans le foie et les poumons d'un fœtus trouvé chez une vache phtisique. Ce cas est devenu classique à force d'avoir été souvent cité.

1. Ce fait est vraisemblablement dû à cette circonstance que la tuberculose généralisée s'observe plus fréquemment dans l'espèce bovine que dans l'espèce humaine.
2. *Fortschr. der Medic.* 1885.

Nous venons précisément d'avoir l'occasion de pratiquer deux observations du même genre entièrement démonstratives. Nous les publions, justement parce que nous pensons qu'il est d'un véritable intérêt, au point de vue de l'histoire de l'hérédité de la tuberculose, de signaler ces cas, de les décrire le plus exactement possible, ne fût-ce que pour fournir des matériaux à ceux qui, plus tard, voudront établir statistiquement la fréquence relative de la tuberculose dite héréditaire et de la tuberculose acquise après la naissance.

Observation I. — Le 25 janvier 1889, nous recevons de M. Lefebvre, médecin vétérinaire, le foie et les poumons, accompagnés de leurs ganglions, d'un fœtus de huit mois trouvé dans la matrice d'une vache atteinte de tuberculose généralisée. (L'utérus de celle-ci était pourtant indemne.)

Le foie mesure 11-7-3 cent.; à sa face inférieure, on reconnaît la veine ombilicale rampant dans le sillon antéro-postérieur gauche et se bifurquant en deux branches secondaires, dont les subdivisions se perdent dans la substance hépatique. Tout le long de la branche transversale de bifurcation sont appendus, au niveau du hile de de l'organe, une dizaine de ganglions lymphatiques, dont les uns mesurent à peu près 4 millimètres suivant leur plus grand diamètre, les autres jusqu'à 1 centimètre. Ces ganglions présentent presque tous, à peu près à leur centre, un petit foyer irrégulier, formé par la confluence de petits points caséo-crétacés, gros chacun comme une tête d'épingle, se laissant énucléer facilement.

Dans la substance hépatique elle-même, on trouve, notamment au voisinage de la face convexe de l'organe, quatre ou cinq granulations, de 4 millimètres environ de diamètre, nettement limitées, d'une coloration blanc grisâtre, faisant saillie sous la capsule (V. fig. 1, pl. II). Quelques autres foyers, de même volume à peu près, se retrouvent plus profondément logés dans le parenchyme.

A l'endroit du hile pulmonaire, un peu en dessous de la bifurcation de la trachée, on trouve un paquet formé d'une douzaine de ganglions lymphatiques, un peu plus volumineux que ceux du hile du foie.

Ces ganglions présentent à leur centre les mêmes petits points jaunâtres, crétacés, signalés dans les ganglions du foie.

Ni les poumons, d'aspect atélectasique, ni les plèvres, ne présentent de néoformation pathologique.

Les coupes microscopiques, pratiquées à travers les nodosités du parenchyme hépatique, ont montré que ces dernières étaient formées

entièrement par des follicules dits tuberculeux, avec nombreuses cellules géantes, à noyaux disposés à la périphérie de l'élément, et au centre en coagulation nécrotique. Ces foyers d'apparence tuberculeuse étaient véritablement encapsulés au sein de la substance hépatique. (V. fig 2.) Dans certaines coupes, nous avons vu de petites masses imprégnées de sels calcaires, et nettement enkystées au milieu de follicules tuberculeux.

Nous avons recherché le bacille de Koch par la méthode de *Herman* (V. plus loin). Nous avons vu facilement quelques bacilles, cinq ou six, dans certaines cellules géantes, et d'autres bacilles de même aspect disséminés dans le tissu de granulations lui-même.

Mais la nature véritablement tuberculeuse de ces lésions a été le mieux mise en évidence dans les coupes des ganglions du hile du foie et du poumon.

Partout, au sein des petits foyers jaunâtres signalés, nous avons vu de belles cellules géantes typiques, et, par la méthode de Herman, nous avons trouvé au sein de ces éléments plurinucléaires une quantité *énorme* de bacilles de Koch : ceux-ci étaient disposés en une magnifique couronne à la périphérie de la cellule géante; nous avons compté jusqu'à plus de cent bacilles dans certaines cellules. De nombreux microbes de même aspect étaient également disséminés partout au sein des follicules tuberculeux. Pourquoi les bacilles apparaissaient-ils plus nombreux ici que dans les granulations du foie, bien que les lésions histologiques fussent de même ordre ? Peut-être ce fait est-il dû à ce que, dans les lésions hépatiques, qui sont les plus anciennes, les éléments parasitaires ont déjà subi des altérations qui les rendent moins sensibles à l'action des substances colorantes.

Quoi qu'il en soit, la nature véritablement tuberculeuse de toutes les lésions est évidente, comme on peut s'en assurer par l'examen de la figure 3.

Observation II. — Le 2 février 1889, l'un de nous trouve, à l'abattoir de Liège, les remarquables lésions suivantes chez un veau de six semaines.

A la surface du foie, du côté convexe, on trouve en un point une nodosité grisâtre, de 1 centimètre de diamètre environ, logée dans la substance hépatique; une production du même genre, irrégulièrement triangulaire, siège en un autre point de la surface de l'organe.

Les ganglions du hile sont notablement hypertrophiés. Le plus volumineux d'entre eux mesure environ 3 centimètres suivant son plus grand axe ; à une de ses extrémités, on trouve un foyer caséo-crétacé, de 1 centimètre d'étendue à peu près ; à l'autre extrémité

existent de petites taches jaunâtres punctiformes. Les autres ganglions sont plus petits; il en est qui ne dépassent pas 6 à 7 millimètres suivant leur plus grande longueur. Dans les uns, on trouve des foyers déjà crétacés, tandis que dans les plus petits, il n'existe que des traînées jaunâtres parcourant la substance du ganglion, sans présenter de dégénérescence calcaire.

Au hile du poumon, il existe deux paquets ganglionnaires : les ganglions ont à peu près les mêmes dimensions que ceux du foie; ils présentent par-ci par-là des traînées jaunâtres, mais pas de calcification. Pas de lésions, ni aux poumons, ni à l'intestin. Les coupes des granulations hépatiques et des ganglions montrent toutes de nombreuses et belles cellules géantes au sein de toutes ces lésions.

La méthode d'Herman a permis également de retrouver partout les bacilles de Koch, aussi nombreux en certains points que dans les foyers tuberculeux de l'observation I. Chose curieuse, les follicules tuberculeux du foie se sont encore une fois montrés moins riches en bacilles que ceux des ganglions.

Il est hors de doute que la première de nos observations constitue un exemple on ne peut plus net, typique peut-on dire, de tuberculose acquise par voie transplacentaire. Les lésions ont certainement débuté par le parenchyme hépatique, là où les bacilles ont été déversés par la veine ombicale; c'est du reste dans le foie que les altérations sont les plus volumineuses et les plus anciennes. De là, les bacilles ont gagné les ganglions lymphatiques du hile du foie, puis du hile pulmonaire. *Les poumons étaient indemnes*, ce qui démontre une fois de plus que ce n'est pas là qu'il faut chercher de préférence les altérations de la tuberculose congénitale, fait du reste parfaitement en rapport avec l'absence de condition spéciale de nature à favoriser le dépôt des parasites venus du placenta dans cet organe.

Nous écartons absolument l'hypothèse d'une contamination bacillaire par l'ovule ou le sperme, précisément en raison de la localisation des lésions au foie, en rapport avec la circulation ombilicale.

Quant à notre seconde observation, elle doit être, nous semble-t-il, assimilée complètement à la première, au point de vu de l'origine maternelle de l'infection : les lésions ont le même siège, elles sont assez développées pour qu'on puisse supposer qu'elles remontent à une date antérieure à la naissance; on n'a

Fig 1

g
l
a
v

Fig 3

Fig 2

e
n
a

pas noté enfin de tuberculose ni pulmonaire ni digestive, et nous ne voyons guère pourquoi, s'il s'agissait d'une tuberculose acquise après la naissance, les parasites eussent été se loger là précisément où nous les avons retrouvés dans un cas de tuberculose congénitale évidente.

Nous reportons volontiers le succès de nos examens, au point de vue de la démonstration du bacille de Koch, à l'excellente méthode qui nous a servi et qui vient d'être imaginée par M. *Herman*, préparateur au laboratoire de Liège. Elle est extrêmement rapide, d'un emploi très facile, et fournit, comme on peut s'en convaincre par l'examen de la figure 3, de fort belles préparations [1]. Nous avons pu nous assurer de plus, à l'avantage de cette méthode, qu'elle donne un nombre beaucoup plus grand de bacilles colorés que les procédés ordinaires. Seulement, l'action de la chaleur produit ici une fragmentation des bâtonnets, qu'il ne faudrait pas prendre pour une vraie sporulation.

Nous tenons à remercier M. Keiffer, à la parfaite obligeance duquel nous devons les belles figures jointes à cette note.

EXPLICATION DES FIGURES (Pl. II)

Figure 1. — Foie, vu par la face supérieure, d'un fœtus de huit mois, trouvé chez une vache phtisique : des granulations (*g*) apparaissent sous la capsule, *v* est la veine ombilicale, *l* le ligament suspenseur.

Figure 2. — Coupe à travers une granulation hépatique.
a, cellule géante,
b, capsule entourant la masse tuberculeuse,
c parenchyme hépatique embryonnaire (Hartnack, obj. 4, ocul. 3).

Figure 3. — Ganglion du hile du foie du même fœtus. Coupe traitée par la méthode de Herman. Bacilles tuberculeux (Leitz. Immersion 1/12.)

1. Voir, à la suite, *Procédé rapide de coloration du bacille tuberculeux*, par M Herman.

PROCÉDÉ RAPIDE DE COLORATION DU BACILLE TUBERCULEUX

DANS LES LIQUIDES ET LES TISSUS ORGANIQUES,

Par M. MARTIN HERMAN, préparateur à l'Université de Liège.

Ce procédé est encore une application du principe de Koch : *Le bacille tuberculeux s'imprègne très difficilement des matières colorantes, mais une fois la coloration obtenue, elle résiste aux agents d'extraction les plus énergiques, entre autres à l'acide nitrique.* Cette propriété suffit à distinguer le bacille de Koch d'autres microbes, qui se colorant facilement se décolorent de même.

Autrefois, pour arriver à un degré de coloration suffisant, on prolongeait le séjour de la préparation dans le bain colorant (24 heures). A la vérité on peut, par l'emploi de mordants (acide phénique, pyridine. etc.), réduire à quelques minutes le temps de coloration.

En chauffant le bain colorant jusqu'à ce que de petites bulles viennent crépiter à la surface du liquide, nous avons réussi à colorer *en moins d'une minute* le bacille de la tuberculose dans les liquides et dans les tissus.

C'est d'une part *dans l'emploi de cette température élevée* combinée à l'emploi d'un mordant, et d'autre part *dans le choix des principes colorants*, que résident les modifications que nous avons apportées aux procédés connus.

Le principe colorant que nous employons est le krystallviolet (Hexaméthylviolet, violet de méthyle 6 B). Les autres couleurs d'aniline, à la rigueur suffisantes, ne donnent pas au bacille de Koch la même intensité de coloris, et les préparations obtenues à l'aide de ces teintures ne sont pas aussi durables que celles colorées par le krystallviolet. La coloration du fond de la

préparation s'obtient de préférence à l'aide de l'éosine. Cette substance acide est douée d'un pouvoir colorant intense et d'une grande puissance de différenciation.

De plus, le ton rose qu'elle donne au fond tranche vivement sur la teinte violette des microbes tuberculeux; enfin, l'éosine imprègne la préparation en moins de 30 secondes.

La *technique* à suivre est la même que celle employée dans les méthodes connues. Seulement, pour que notre procédé soit avant tout rapide et pratique, nous avons réduit cette technique à sa plus simple expression, en laissant de côté l'emploi de l'essence de clous de girofle, du xylol, etc., du moins en ce qui concerne les préparations des liquides organiques.

Préparation du bain colorant. — Le bain colorant employé est à peu près celui que le docteur Kuehne (de Wiesbaden) recommande pour la recherche de divers microbes; il est formé du mélange de deux solutions :

1°	Krystallviolet	1 gramme.
	Alcool à 95°	30 cent. cub.
2°	Carbonate ammonique	1 gramme.
	Eau distillée	100 cent. cub.

Dans un verre de montre, on verse une certaine quantité de la solution ammoniacale, à laquelle on ajoute assez de krystallviolet pour qu'une goutte du mélange, déposée sur du papier à filtrer, y laisse une tache très foncée. Ce bain sera chauffé comme il a été dit plus haut, jusqu'à ébullition commençante, et ce degré de température sera maintenu pendant toute la durée de la coloration.

Coloration du bacille tuberculeux en suspension dans les liquides. — Une goutte du liquide à examiner (sang, urine, crachats, etc.), est étendue, comme à l'ordinaire, sur un couvre-objet. La préparation étant desséchée à l'air, on la passe 3 à 4 fois dans la flamme d'une lampe à alcool et on la dépose dans le bain colorant chauffé. Un séjour d'une minute au plus, dans ce bain, donne aux bacilles une coloration très suffisante. Les lamelles. retirées du bain, sont décolorées par l'acide nitrique étendu

(1 p. 10 d'eau) pendant un court instant (quatre à cinq secondes suffisent le plus souvent), lavées rapidement à l'alcool à 95°, desséchées complètement au-dessus d'une flamme et montées dans le baume.

Les bacilles de la tuberculose sont vivement colorés en violet, le fond de la préparation est incolore. Si l'on veut obtenir une double coloration, on plonge la lamelle, après décoloration par l'acide nitrique et l'alcool, dans le bain suivant :

Éosine	1 gramme.
Alcool à 60°.	100 cent. cub.

La coloration du fond s'obtient à froid en une demi-minute; on lave rapidement à l'alcool, on dessèche et l'on monte, comme ci-dessus, dans le baume. Les bacilles se détachent en violet foncé sur le fond rose de l'éosine : cette double coloration donne des préparations très élégantes et très démonstratives.

Coloration du bacille tuberculeux dans les tissus. — Les coupes faites au microtome ou au rasoir dans les tissus durcis à l'alcool, sont traitées absolument de la même manière que les lamelles. Seulement ici, surtout si l'on veut conserver ces préparations, il sera bon, au sortir de l'alcool absolu, de faire passer la coupe par l'essence de clous de girofle, le térébène (essence très fluide) et le xylol, avant de la monter dans le baume. De plus, on se sert, pour la décoloration, d'acide nitrique au qnart, et non plus au dixième.

La figure 3 de la planche II représente une coupe traitée par cette méthode. Les bacilles tuberculeux apparaissent avec la plus grande netteté.

ÉTUDE SUR L'IMMUNITÉ PAR RAPPORT AU CHARBON,

Par M. le professeur **PERRONCITO** [1].

J'ai commencé à étudier en 1883 l'immunité par rapport au charbon des différentes espèces d'animaux, et fait de nombreuses expériences en 1886-1887, au cours de recherches poursuivies avec M. le professeur König [2] pour trouver un liquide artificiel propre à la culture de la bactéridie charbonneuse, recherches que nous avons été obligés d'interrompre. J'avais poursuivi mes expériences sur la résistance de diverses espèces animales, en me servant de cultures virulentes dans les bouillons et dans les milieux artificiels, et j'avais été conduit à penser qu'un organisme vivant, doué d'une immunité naturelle ou artificielle vis-à-vis du charbon, acquiert la propriété de détruire le *bacillus anthracis* dans un laps de temps relativement court. J'ai sacrifié de nombreux animaux pour établir ce point de doctrine, qui me paraît de la plus haute importance au point de vue scientifique et pratique. Mais mes résultats les plus démonstratifs ont été obtenus sur un bélier que je gardais depuis 1884 pour l'étude de ce sujet.

Il était d'une race de Biella, de haute taille et âgé d'environ cinq ans. Il avait été vacciné en 1884 avec des vaccins préparés dans mon laboratoire suivant la méthode Pasteur. En 1885, je lui inoculai, sans l'avoir préparé au préalable, un centimètre cube d'un virus tuant les cobayes en 80 heures. Il eut une forte fièvre, mais ne perdit point la régularité de ses fonctions, et se rétablit tout à fait au bout de 2 jours.

Un mois après, je lui inoculai un centimètre cube de virus fort, tuant les cobayes en 36 heures. Le seul symptôme maladif fut une élévation de température de 1 degré pendant 1 jour.

Je l'envoyai ensuite dans une ferme avec d'autres animaux,

1. Communic. à l'Académie de Médecine de Turin, le 25 janvier 1889.
2. *Annali di agricoltura*, 1887. — *Direzione generale dell' agricoltura, Roma*, 1886-1887.

vaccinés comme lui, pour être nourri au pâturage dans les conditions ordinaires. Il reçut, au printemps de 1887, en même temps que des brebis vaccinées, l'injection d'un virus tuant les cobayes en 60 heures, et qui fut partout bien toléré. Au printemps de 1888, je fis châtrer le bélier, pour voir s'il supporterait l'inoculation virulente aussi bien après qu'avant l'opération. L'animal engraissa, et atteignit le poids de 89 kilos.

Dans les premiers jours de décembre dernier, je lui inoculai $2^{cc},5$ d'un virus tuant les cobayes en 3 jours à peu près, sans que l'animal manifestât aucun signe de souffrance.

Le 1er janvier, je lui inoculai 8 centim. cubes de virus fort, tuant les cobayes en 36 heures. Il s'y montra tout à fait insensible.

Le 12 janvier, on lui inocula encore 2 centimètres cubes de virus fort entièrement composé de spores, et le 17, c'est-à-dire 5 jours plus tard, il reçut encore 4 seringues Pravaz d'un virus fort, entièrement composé de spores, à la face intérieure des 2 cuisses : ce virus tuait les cobayes en 36 heures. Le mouton ne donna aucun signe de souffrance. On avait pourtant noté une légère enflure aux points d'inoculation, et un petit nodule d'une dureté particulière dans le tissu conjonctif sous-cutané et les muscles correspondants de l'une des cuisses.

Le 21, soit 4 jours après la dernière inoculation de virus fort, on tue le mouton, on recueille son sang dans des vases stériles pour des essais ultérieurs, et on en fait l'autopsie avec un grand soin, en portant une attention toute particulière sur les points d'inoculation et sur les viscères. On ne trouva pas autre chose qu'une infiltration légère, séro-gélatineuse, en correspondance avec le tissu conjonctif intermusculaire dans le point d'inoculation de la cuisse droite, et un nodule avec foyer purulent un peu plus bas. Il n'y avait rien à gauche.

A l'examen microscopique, le pus présenta des filaments sporifères ayant toute l'apparence de ceux du *bacillus anthracis*, et en outre le *streptococcus pyogenes*. Dans les cellules du pus et dans le liquide de la préparation, on observa en outre des granules ayant toute l'apparence des spores. Des cultures faites avec ce pus et les parties suspectes ne donnèrent que des coccus, mais pas de *bacillus anthracis*.

J'ai aussi inoculé des cobayes et fait de nombreuses cultures dans du bouillon de poule et sur la gélatine, soit avec le pus et

les produits de lavage autour du foyer purulent, soit avec le liquide recueilli sur la surface des points d'inoculation ou des tissus environnants, soit avec l'exsudation jaune gélatineuse dans laquelle on avait trouvé des granules suspects, soit encore avec la pulpe splénique; avec celle du foie, prise en divers points du parenchyme; avec celle des reins; avec le sang du cœur ou le sérum sanguin; avec l'encéphale et l'eau de lavage qu'on en retirait après l'avoir réduit en tout petits morceaux. On inocula des lapins et des cobayes avec les produits de cultures des exsudats de la cuisse, avec de la moelle rouge des côtes délayée dans de l'eau stérile, avec de la moelle du fémur. Toutes ces expériences ont été faites avec l'aide de mon assistant, M. le Dr Airoldi, qui s'était mis avec beaucoup d'entrain à ces recherches, et a fait de nombreuses tentatives de cultures dans le bouillon, la gélatine, la gélose, en ensemençant largement avec les divers tissus et organes du corps du bélier.

Aucun de nos animaux n'est mort du charbon, et aucune de nos cultures n'a donné de bactéridies.

Quelles déductions peut-on tirer de cet important résultat? Pour l'expliquer il faut ou bien admettre que le virus est éliminé au travers des tissus sains, ce qui est en désaccord avec toutes les observations faites, ou bien qu'il est détruit sur place, dans les espèces, ou dans les individus doués de l'immunité naturelle ou artificielle. On sait, en effet, qu'en dehors des espèces (cochons, oiseaux) jouissant de l'immunité charbonneuse, il y a des races (moutons d'Algérie) et des individus (race bovine, ovine, chevaline) possédant naturellement cette même immunité, de même qu'il y a des races indemnes vis-à-vis de la clavelée (race bretonne, d'après M. Nocard), des chiens réfractaires à la rage et des hommes réfractaires à la syphilis.

On connaît aussi les diverses théories mises en avant pour expliquer ces faits. Sans en contredire directement aucune, mes expériences montrent qu'il y a destruction rapide, dans les tissus de l'animal vacciné, des formes des virus même les plus résistantes, telles que les spores. C'est une conclusion qui est en désaccord avec les résultats d'autres savants, mais qui me semble établie par les faits qui précèdent avec une évidence tout à fait démonstrative.

NOUVELLE ÉTUVE, CHAUFFÉE AU PÉTROLE, A TEMPÉRATURE RÉGLABLE A VOLONTÉ

Par M. J. KRASILSTCHICK.

L'intérêt excité par les études bactériologiques, par les découvertes qu'elles nous ont données et celles qu'elles nous promettent, est tel que les laboratoires voués à cet ordre de recherches se multiplieraient beaucoup, si tous les instruments dont on s'y sert pouvaient être commodément installés partout.

Il en est un dont on ne saurait se passer, l'étuve à température constante. On n'a qu'à choisir entre les modèles quand on dispose d'une canalisation de gaz, mais quand on n'en a pas, on est fort embarrassé de trouver une étuve réglable pouvant être chauffée avec du pétrole ou tout autre combustible.

M. Sahli, de Berne, a bien décrit une étuve chauffée par le pétrole; mais elle semble être restée à l'état de projet, et il nous a été impossible de nous la procurer. On s'explique du reste un peu, en lisant la description qui en a été donnée, qu'elle ne soit pas devenue pratique. M. Wiesnegg, lorsque je suis allé le voir pour lui parler de mon appareil, me fit voir un système dû à M. d'Arsonval, dans lequel l'étuve est chauffée par un courant de vapeur d'un liquide volatil, et maintenue ainsi à une température constante. Cette température est de 35°,5 quand on emploie l'éther, de 61° avec le chloroforme; pour des températures intermédiaires, on emploie des mélanges de chloroforme et d'éther. Mais il est difficile d'obtenir des températures au-dessous de 35°,5 ; et pour les températures un peu supérieures, il faut tâtonner pour avoir le mélange convenable, qu'on n'est du reste jamais sûr de pouvoir conserver dans ses proportions initiales, les pertes inévitables de la distillation portant toujours sur le liquide le plus volatil.

Aussi ai-je cru devoir poursuivre la construction d'une autre lampe à pétrole ou à essence minérale, fondée sur un principe nouveau qui permet de régler la flamme comme celle d'un bec de gaz. Ce principe résulte de l'observation suivante :

Si sur la mèche plate d'une lampe ordinaire à pétrole préalablement allumée on promène, en le faisant rouler d'un bout de la mèche à l'autre, un petit cylindre tel qu'un crayon, par exemple, on voit la flamme s'éteindre sous le cylindre roulant, s'allumer lorsque le cylindre se retire, bref, suivre avec précision ses moindres mouvements. Il est donc possible, par ce moyen, d'en augmenter ou d'en réduire à volonté et à chaque instant la largeur, et c'est exactement ce dispositif qui me permet de faire varier la quantité de chaleur fournie par la lampe.

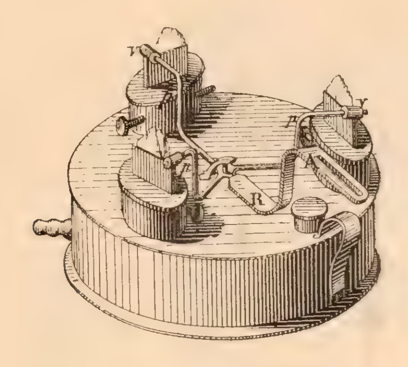


Fig. 1.

La figure 1 représente cette lampe avec ses trois mèches plates disposées près de la circonférence du récipient cylindrique servant à emmagasiner le pétrole. Au centre se trouve un axe qui supporte trois tringles courbes (*p*, *p*, *p*) dont les extrémités munies de petits galets cylindriques (*v*, *v*, *v*) roulent sur les mèches. Si les mèches sont allumées, la rotation du système mobile sur l'axe pourra donc régler simultanément la dimension des trois flammes : une goupille fixée sur le récipient sert de point de buttée, pour éviter que par leur mouvement les petits rouleaux dépassent la largeur de la mèche et éteignent par cela

même les flammes. Dans cette position de buttée, les flammes sont réduites à l'état de veilleuses : elles sont trop faibles pour chauffer l'étuve, mais elles suffisent pour assurer le rallumage dès que les galets s'écartent par le mouvement de l'axe qui les conduit. Comme on le voit, ce régulateur, dont le mode d'action est très simple, comporte une construction légère ; sa masse faible lui assure d'ailleurs la plus grande mobilité, et par suite beaucoup de sensibilité.

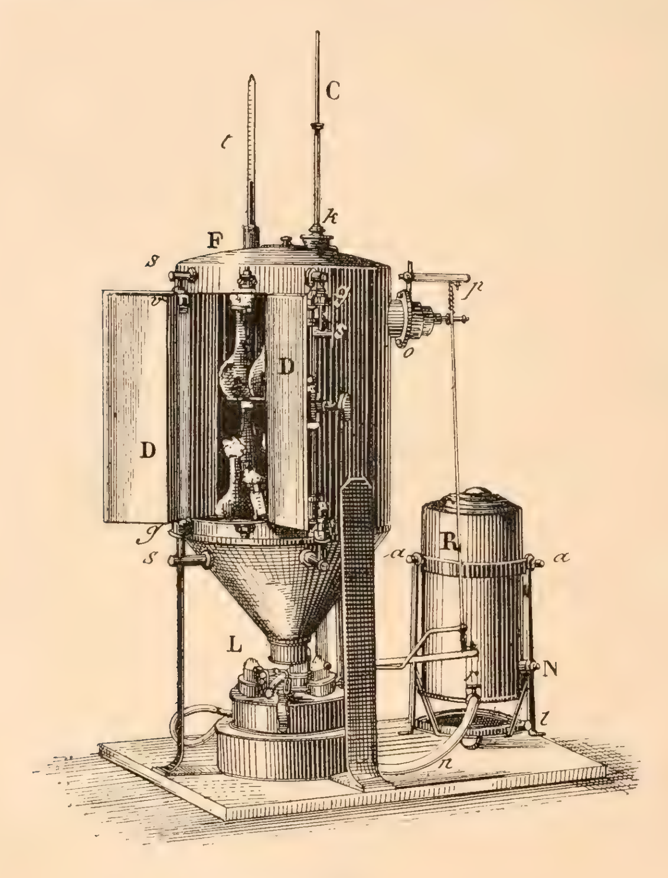


Fig. 2.

Le moteur que nous avons choisi pour actionner notre régulateur de flamme est la force développée par la dilatation d'une masse d'eau enveloppant l'étuve. C'est le principe appliqué pour

la première fois par M. d'Arsonval dans son étuve à gaz. Nous avons conservé le disque souple en caoutchouc, dont cet auteur s'est servi pour traduire au dehors les variations de volume du matelas d'eau. Les autres régulateurs qui agissent par la dilatation du mercure ou par l'expansion des vapeurs de liquides volatils étaient insuffisants pour atteindre notre but.

La figure 2 représente notre étuve de forme cylindrique avec ses deux portes s'ouvrant de côté, sur la paroi du cylindre, ce qui est plus commode que la fermeture au-dessus de l'étuve, comme dans l'appareil de M. d'Arsonval. Ce n'est pas la première fois que l'on a essayé de faire les portes latérales. Ainsi M. le Dr Heydenreich, en Russie [1], à construit une étuve de forme tétragonale, dans laquelle la porte est fixée par des charnières. Cette porte est garnie de matières isolantes, débris de liège ou de papier. Dans l'étuve construite par Wiesnegg pour M. Fol de Genève [2], la porte est également latérale et elle renferme de l'eau; mais cette eau n'est pas en communication avec celle qui remplit l'étuve. La porte est munie d'un brûleur à gaz indépendant, et d'un régulateur à mercure de Reichert également indépendant.

Dans l'atelier de M. Wiesnegg nous avons vu une autre construction de porte latérale qui nous a semblé aussi peu commode que les précédentes. C'était une étuve à gaz de M. le Dr d'Arsonval construite en cuivre. La porte était double et vitrée à la manière des grandes étuves de M. Pasteur. A notre avis, une telle construction ne convient pas aux petites étuves, comme le sont d'habitude celles de M. d'Arsonval.

Nous avons imaginé une autre construction bien simple qui permet d'avoir les portes de côté. Au lieu de suspendre ces portes sur des charnières ordinaires, nous nous sommes servi de ces dernières comme de conduites d'eau pour faire communiquer la capacité de la porte avec celle de l'étuve. Nos charnières (fig. 2, *ss*) se composent de deux tubes courbés à angle droit, et munis de presse-étoupes comme ceux des niveaux d'eau de chaudières à vapeur. La porte est comprise entre ces deux tubes, et grâce aux presse-étoupes peut tourner sur eux sans difficulté, pendant que sa capacité interne, qui est pleine d'eau, reste en

1. Voir les *Méthodes de recherche des micro-organismes* de cet auteur, 2e édition, 1885, Saint-Pétersbourg, page 189 (russe).

2. Voir Hueppe, *Die Methoden der Bacterienforschung*, édition 1886, page 15, fig. 4.

communication avec la capacité annulaire du reste de l'étuve. Nous avons fait deux portes s'ouvrant en sens inverse (fig. 2, DD).

Cette disposition permet de ne pas avoir de régulateur spécial pour les portes. Le volume d'eau de l'étuve se trouve augmenté par celui compris dans les portes, et l'ensemble de cette eau agit sur le régulateur à membrane de caoutchouc. Enfin, dernier avantage, cette disposition permet de conserver à l'étuve une forme cylindrique, au lieu de lui donner une forme tétragonale.

Les parois, le fond et la toiture de notre étuve sont partout en doubles parois. Dans le point le plus élevé de la toiture, une ouverture (fig. 2, *k*) sert à l'introduction de l'eau, et porte le tube de verre manométrique (*c*). Sur le côté de l'étuve (*o*) se trouve placée la garniture avec disque de caoutchouc (fig. 3, K) qui se gonfle en avant lorsque la température s'élève, et se retire en sens contraire lorsque la température s'abaisse et que la pression de l'eau diminue.

Pour actionner notre régulateur des flammes à l'aide des mouvements du disque en caoutchouc, nous avons construit un mécanisme intermédiaire (fig. 3). Il se compose d'un axe vertical Q, soutenu par des supports A et B, et portant deux leviers P et P″. D'autre part, une baguette L, dont le bout est muni d'un disque, vient s'appuyer sur la membrane en caoutchouc, tandis que de l'autre elle porte une virole d'appui et une vis de réglage. Cette baguette est pressée contre la membrane par un ressort à boudin *s*. La boîte conique M qui renferme le disque et le ressort est munie d'un tube N qui sert de guide à la tige L. Cette dernière actionne par l'intermédiaire du levier supérieur P l'axe Q, et ce dernier, à l'aide du levier inférieur P″, vient conduire le mécanisme déjà décrit sous le nom de régulateur des flammes.

Pour rendre les mouvements bien sensibles, deux ressorts à boudin sont emmanchés sur l'axe Q. L'un d'eux, *w*, situé en haut, qui a le plus de force, agit dans le même sens que le ressort *s*, c'est-à-dire pousse la tige et son disque terminal contre la membrane de caoutchouc, lorsque la pression de l'eau tombe, et que cette membrane peut se retirer en arrière. L'autre, *v*, plus faible, agit dans le sens opposé à *w*; il fait tourner l'axe dans

le même sens que la pression de l'eau, lorsque cette dernière tend à faire gonfler la membrane en caoutchouc et à pousser la tige L.

Grâce à ces irois. ressorts, le mécanisme intermédiaire se trouve toujours dans un état de tension, il butte toujours exactement contre la membrane, et le moindre changement dans la pression de l'eau se reproduit de suite dans le mécanisme intermédiaire.

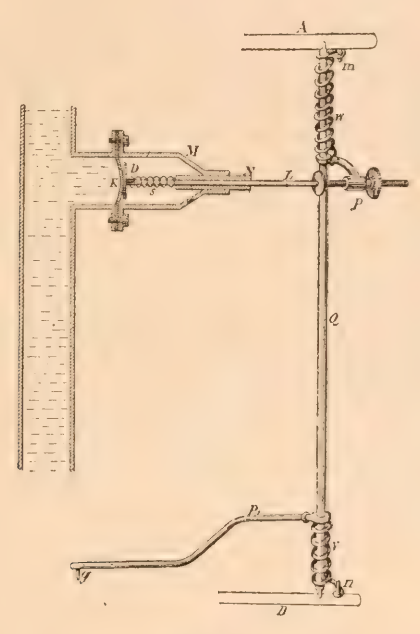


Fig. 3.

Des deux leviers P et P″. le dernier, situé en bas, est dix fois plus long que l'autre, ce qui lui permet de conduire aisément les galets et assure pour eux la course voulue. Dans notre étuve. un changement de 1/4 de degré dans la température provoque un déplacement de 1 millimètre pour la baguette L, et par suite pour la goupille *g* un déplacement de 10 millimètres. Ce levier est relié au régulateur des flammes (voir fig. 1) par le levier R, dont l'extrémité porte une fente A servant à recevoir la goupille *g* (fig. 3). Le mouvement de 10 millimètres de la goupille entraîne

un déplacement de même grandeur pour les petits rouleaux extincteurs des flammes, et par suite un changement pareil dans la longueur desdites flammes, d'où une modification sensible dans la quantité de chaleur dégagée.

Tel est le mécanisme de réglage calorifique de notre appareil. Reste à en expliquer le fonctionnement, qui mérite quelques remarques.

L'étuve qui est à notre disposition fonctionne normalement depuis plus de cinq mois, et elle est réglée à 38° centigrades. La température oscille entre 37°,5 minimum, 38°,5 maximum. Ainsi l'écart est égal à 0°,5, et l'amplitude des oscillations est de 1° centigrade. Avant de fixer notre étuve à cette température de 38° centigrades, nous avions réalisé divers essais pour bien déterminer sa facilité de régulation, en la réglant à des températures différentes, et en chauffant ou refroidissant la chambre dans laquelle elle était disposée. Il serait trop long de résumer ces essais. Je me contente d'indiquer le plus concluant. Le 30 octobre, j'ai déterminé dans la chambre une variation de température de 8°,5 (10°,5 à 19°). La variation de température de l'étuve a été de 1°,9 seulement.

Si l'on considère que dans des conditions normales, aucun laboratoire n'est appelé à subir des variations de température aussi marquées, il restera admis que, dans les conditions ordinaires, notre étuve ne subira pas des oscillations de température surpassant 1° au maximum.

Pour compléter cet exposé, il nous reste à indiquer encore les moyens de mettre l'appareil en action, de le régler pour la température choisie, et de le conserver en bon état de fonctionnement.

Soit à régler l'étuve pour la température de 38° centigrades. On la remplit à la façon ordinaire, d'eau bouillie et refroidie à environ 45° C. Pour éliminer l'eau restée au-dessus des portes, on enlève les deux petites vis (*v v*, fig. 2) que l'on ne fixe que lorsqu'en agitant les portes on n'entend plus aucun bruit de gargouille. On complète alors le remplissage de l'étuve, on la munit de son tube manométrique, lui-même à moitié rempli d'eau, et on s'assure que tout l'air est chassé. Au besoin, on accélère l'évacuation en pressant doucement sur la baguette L,

puis on établit le mécanisme intermédiaire. On met d'abord en place le support inférieur B (fig. 3), puis on place l'axe vertical Q de manière que le bout du levier supérieur P soit fixé à la même hauteur que la baguette L. On assure ensuite le support A. On tend les ressorts *u* et *v* en les tournant deux ou trois fois autour de l'axe et en accrochant leurs extrémités aux goupilles *m* et *n*.

Pendant la durée de ces opérations la température de l'eau introduite dans l'étuve s'est abaissée à 38° ou même à 37°. On allume alors la lampe, et à l'aide de la main on agit sur le régulateur pour mettre les flammes à leur maximum; *à ce moment le mécanisme intermédiaire n'est pas encore relié au mécanisme de réglage des flammes.* La chaleur dégagée réchauffera l'étuve, et lorsque la température a atteint 39°, soit 1° de plus que la température voulue (nous appelons *température primaire* cette température supérieure d'un degré à celle du réglage), on enlève à l'aide d'une longue pipette toute l'eau qui dépasse le niveau moyen qui est tracé dans le milieu du tube C. On déplace ensuite tout doucement le régulateur jusqu'à ce que les flammes arrivent à leur combustion maximum, et à ce moment on accroche le levier inférieur P à l'aide de sa goupille terminale dans la branche conductrice du levier conduisant les rouleaux (fente A, voyez fig. 1 et 3): la température s'abaisse, la pression de l'eau diminue, et le régulateur se met à fonctionner.

Une température supérieure à la température primaire ne peut se produire, puisqu'à cette dernière le régulateur est dans la position des plus petites flammes. D'autre part une température plus basse que 37°, c'est-à-dire de 2° inférieure à la température primaire, ne peut davantage se manifester, parce que pour cet écart de 2° le régulateur est ramené dans la position du maximum des flammes, et que ces dernières sont assez fortes pour échauffer l'étuve à 45-48°, même si l'air de la chambre n'est qu'à 10 ou 12°.

En réalité, l'étuve n'atteint jamais dans un sens ou dans l'autre les températures limites de 39° ou 37°, et oscille entre 37 1/2 et 38 1/2, tout en se maintenant le plus fréquemment à 38°.

Si l'on veut régler plus étroitement encore la température, on a recours à la manipulation suivante : si, après avoir fixé la température primaire à 39°, le thermomètre accuse 37°,5 au lieu

de 38°, et que la température oscille entre 37°,5 et 38°,5, on peut avec une pipette enlever un peu d'eau dans le tube sans toucher ni à la lampe ni au régulateur. Cette opération diminuera légèrement la pression de l'eau, comme si l'étuve avait éprouvé un refroidissement, et le régulateur agira aussitôt pour augmenter d'autant les flammes. On corrigera ainsi facilement l'écart. En procédant inversement, c'est-à-dire en ajoutant de l'eau dans le tube, on corrigerait de même un écart inverse.

Il n'est pas sans intérêt d'insister encore sur quelques détails concernant la fixation de l'étuve à la température voulue.

Avant de mettre en relation le mécanisme intermédiaire (la goupille G, fig. 3) avec le régulateur (levier R, fig. 1), il est nécessaire que le levier P du mécanisme soit dirigé exactement *vers le centre de la lampe*, ou, en d'autres termes, il est nécessaire au commencement de la régulation que l'axe Q, la goupille *g* et la branche R du régulateur sur la lampe se trouvent tous trois *sur une ligne droite*. Pour qu'il soit toujours possible de réaliser cette condition, le levier supérieur P du mécanisme intermédiaire

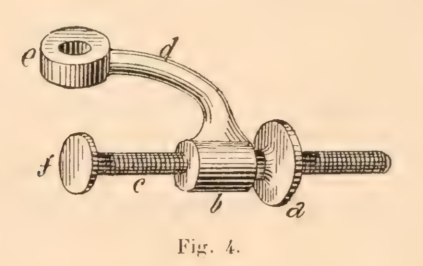


Fig. 4.

est construit comme l'indique la figure 4. La rondelle *e* qui est rivée à l'axe Q porte un levier courbe *d* qui se termine par un manchon creux *b*. Ce manchon est fileté intérieurement, et une vis s'y trouve placée. Cette vis se termine par un disque *f* qui, grâce au ressort *w* (fig. 3) reste toujours appuyé sur la baguette L. Au moment où l'on fixe la température primaire, si le levier inférieur P n'est pas dirigé exactement vers le centre de la lampe, il est très facile de rectifier sa position en déplaçant la vis *c* (fig. 4) dans son manchon. Lorsque la position en ligne droite est obtenue, on visse l'écrou *a* (fig 4) le plus près possible du

manchon *b*, et ce n'est qu'après cette manipulation que l'on accroche la goupille du levier inférieur P (fig 3) dans la branche conductrice R (fig. 2) du mécanisme régulateur des flammes. Avant de procéder à l'accrochage, on fixe les flammes au minimum de combustion, puis on tourne la lampe sur son axe pour amener la goupille *g* (fig. 3) du mécanisme intermédiaire dans la fente du levier R (fig. 1).

On peut encore rendre plus sensible la régulation de notre étuve en usant de l'artifice suivant. Quand l'étuve est déjà réglée à la température voulue, on enlève le bouchon K (fig. 2) et son tube, et l'on met à la place un bouchon plein en caoutchouc. On remet ensuite en communication le mécanisme intermédiaire et celui de la lampe, comme nous l'avons expliqué plus haut. Dès lors la régulation devient très sensible, par cette raison que tous les changements de volume de l'eau, sous l'influence des changements de température, ne peuvent plus s'exercer que sur la membrane de caoutchouc, toute issue étant fermée à ce liquide. S'il s'agit d'un abaissement de température, le disque en caoutchouc sera de même repoussé dans l'intérieur de l'étuve par la pression atmosphérique. D'autre part, toute rentrée de l'air extérieur sera empêchée, circonstance qui est fort importante pour le bon fonctionnement de l'appareil.

Les soins à apporter à l'étuve sont presque uniquement ceux qu'il faut consacrer à l'entretien de la lampe. Ils sont très simples. Les parties charbonnées des mèches sont nettoyées avec un simple fil d'archal muni d'un manche en bois. On fait passer le fil sur la mèche brûlante pour en détacher les parties brûlées. Cette opération doit être pratiquée deux ou trois fois par jour, cela sans interrompre le fonctionnement, les mèches continuant à brûler.

Une fois tous les cinq ou six jours, on coupe les mèches à l'aide de ciseaux. Pour cela on commence par éteindre les flammes, on détache le régulateur, on coupe les mèches bien droites, puis on replace le régulateur à son ancienne place, et on le met en relation avec le mécanisme intermédiaire. Comme cette opération prend à peine 2 ou 3 minutes, l'étuve n'a pas le temps de subir un refroidissement appréciable.

Le récipient R (fig. 2), situé à côté de l'étuve, sert à alimenter la lampe d'essence minérale. Pour cela, il communique avec elle par un tube de caoutchouc ; il renferme une provision de com-

bustible suffisante pour 8 à 12 jours, et il est construit de manière à maintenir dans la lampe un niveau constant, condition qui contribue beaucoup à rendre régulière la combustion.

Ce récipient se remplit non par-dessus, mais au contraire par-dessous, où se trouve un orifice spécial à cet effet. Quand on veut le mettre en fonction on ferme le robinet T (fig. 2); on bouche l'orifice N par un bouchon L; on enlève les crochets qui soutiennent les axes *a*, *a* et on renverse le récipient en le fixant par des crochets. Dans cette position, on le remplit de liquide, puis on le remet en place. Intérieurement, cet appareil est construit comme les anciennes lampes à huile fonctionnant à niveau constant.

Pour éviter la production du noir de fumée, nous conseillons d'employer de l'essence de pétrole ou du moins du pétrole de bonne qualité. Nous utilisons aussi, pour favoriser une bonne combustion, une enveloppe qui recouvre la lampe et qui ménage des courants d'air, comme on le fait pour les fourneaux à pétrole. Cet appareil, qui n'est pas représenté dans notre figure, car il aurait caché la lampe, supprime tout à fait la production de la suie.

En dehors des soins que nous venons d'indiquer, notre appareil n'en réclame pas d'autres. Il est construit par M. Wiesnegg.

LA MÉTHODE PASTEUR A VARSOVIE

Par M. O. BUJWID.

J'ai donné, il y a deux ans, dans ces *Annales* (V. t. I, p. 241), les résultats de ma pratique de vaccination antirabique. Jusqu'au 1er janvier 1887, j'avais traité 104 personnes, auxquelles j'avais appliqué le traitement simple : une inoculation par jour, en commençant par le moelle de 14 jours, et finissant par celle de 5 jours. J'ai relaté, page 242, le seul cas de mort survenu chez mes opérés.

Entre temps, des essais sur des lapins et sur des chiens m'avaient laissé hésitant sur l'efficacité de ce traitement simple ; et comme, d'un autre côté, les objections et les nombreuses expériences du professeur Frisch, de Vienne, s'élevaient contre le traitement intensif, j'ai essayé pendant quelques mois une autre méthode qui me semblait devoir tenir le milieu entre ces deux extrêmes.

Après avoir constaté, par le moyen de trépanations sur le lapin, que la moelle de 12 jours ne contient plus de virus rabique, celle de 10 jours presque jamais, celles de 8, 7, 6 jours de plus en plus souvent, tandis qu'il y en a constamment dans la moelle de 5 jours, et en quantité assez considérable, je me suis arrêté dans mon traitement à la moelle de 6 jours. Je commençais par inoculer la moelle de 12 jours, puis, successivement et de jour en jour, des moelles de 10, 8, 7 et 6 jours ; après ces cinq jours de traitement, je recommençais une série identique.

J'ai appliqué ce traitement à 193 personnes mordues, dont 7 gravement, parmi lesquelles il y en avait 5 avec des morsures au visage ; ces 7 personnes ont toutes succombé, et, en outre, une huitième portant des morsures légères à la paume de la main droite. Voici leurs noms et le résumé de leur histoire.

1° *Somczyk Agnieszka*, paysanne, âgée de 56 ans, mordue grièvement aux deux mains par un chien inconnu le 22 jan-

vier 1887 ; le traitement commença le 29 janvier. Morte 3 mois après la fin du traitement (Lettre de M. le Dr Dobrski).

2° *Zatawa Walenty*, paysan, 60 ans. mordu à la main gauche (3 morsures profondes qui ont beaucoup saigné) le 13 mars ; le traitement commença le 27. Mort deux mois après la fin du traitement. Deux heures avant de mourir il put boire. Rage convulsive observée par le Dr Rodziewicz.

3° *Kozicki Antoni*, paysan, 48 ans ; 7 morsures assez profondes au visage et 3 à la main gauche. Mordu le 19 avril, commencement du traitement le 20 avril. Mort de la rage convulsive à Varsovie, à l'hôpital de Wola, le 11 juillet. Sa moelle a donné la rage à un lapin après 15 jours.

4° *Hechtkopf Rieren*, enfant de 1 an 1/2. Mordu grièvement au visage par un chien dont la rage a été constatée par l'expérience sur un lapin. Mordu et traité le 5 mai. Mort de la rage convulsive le 20 juillet (observation du Dr Drzewiecki). Trois autres personnes mordues par le même chien et traitées sont restées en bonne santé.

5° *Luszczynska Maryanna*, fillette de 5 ans. Mordue très profondément à la joue gauche et au nez, par un chien mordu par un autre 40 jours avant. Mordue le 9 mai, traitée le 10. Morte de la rage convulsive le 17 juillet (Lettre de M. X).

6° *Arapow Alexandre*. enfant de 3 ans, mordu le 21 juillet : une morsure profonde à la joue droite. Traité du 25 au 31 juillet. Mort de rage un mois après (Lettre du Dr Leszczynski).

7° *Koroboka Michail*, agent de police, 32 ans, mordu peu profondément à la main gauche, le 28 août, par un chien dont la rage a été constatée par l'expérience sur un lapin. Traité depuis le 29 août jusqu'au 8 septembre. Mort de rage convulsive à l'hôpital de Wola le 31 novembre. Sa moelle a donné la rage à deux lapins après 15 et 16 jours.

8° *Bondaruk Jan*, paysan, 40 ans, mordu le 9 septembre par un chien inconnu. Une profonde morsure au nez. Traité du 10 au 16 septembre. Mort de rage le 14 novembre (lettre de M. le chef du district de Chelm) ; les symptômes ne sont pas décrits.

Ainsi ce traitement s'est montré inefficace dans le cas de morsures sérieuses, surtout dans le cas de morsures au visage, et j'y ai renoncé à la première occasion où j'ai eu à traiter des personnes mordues gravement.

Cette occasion se présenta le 21 août 1887, où je vis arriver à mon laboratoire deux paysans mordus l'avant-veille par un loup dont la rage a été expérimentalement constatée. L'un d'eux, Kowalzuk (Joseph), âgé de 50 ans, portait de nombreuses et profondes morsures au visage : l'oreille gauche était à moitié enlevée, Il y avait en outre 2 morsures à la main gauche, 2 au bras gauche et 7 au bras droit. L'autre, Dobrowski Pawel, âgé de 28 ans, portait au nez une profonde blessure de 3 centimètres de longueur.

Je leur appliquai le traitement intensif, en commençant par la moelle de 12 jours, faisant deux inoculations par jour, et deux séries, dont chacune se termina par la moelle de 3 jours.

Depuis, à toutes les personnes mordues à nu ou grièvement, j'ai appliqué le même traitement, excepté aux malades 7 et 8 de la liste qui précède, pour lesquelles je me suis arrêté à la moelle de 4 jours, et qui ont succombé.

Le 24 septembre, j'ai appliqué le même traitement à deux personnes grièvement mordues dans le district de Chelm [1], par une louve dont la rage fut expérimentalement constatée.

Ces quatre personnes et toutes celles qui, se présentant dans les mêmes conditions à la fin de 1887 et en 1888, ont été traitées de même, sont restées en bonne santé, à l'exception d'un garçon de 5 ans, mordu par un chien, et qui est mort 4 mois après la morsure. Je n'ai pas encore pu recevoir l'histoire symptomatique de la maladie. En le supposant mort de rage, cela ne fait qu'une mort sur 390 personnes traitées par la méthode intensive. Il faut ajouter que, depuis ce temps, je fais un choix sévère parmi les mordus, et je refuse ceux qui l'ont été par des chiens dont la rage n'est pas assez sûre, ou ceux dont les morsures n'ont pas saigné, ou bien, ceux qui l'ont été au travers de vêtements ne portant pas de traces visibles de déchirure. En dehors de ces 390 traités, il y a eu 165 personnes à qui j'ai refusé le traitement.

Conservation et préparation des moelles. — M. Grodecki, mon chef de laboratoire, et moi, nous trépanons tous les deux jours

1. Le chef du district a envoyé la tête de la louve. C'est aux chefs de district que j'écris toujours quand je veux avoir des nouvelles de mes malades. Ils les font voir par des médecins et, sans exception, m'envoient les renseignements qu'ils ont recueillis.

un lapin de grandeur moyenne, et aussi constante que possible. Ces animaux sont des léporides gris, assez vifs, aux longues oreilles. Ils succombent régulièrement après 9 jours. Après la mort, on enlève deux morceaux de moelle qu'on place dans deux flacons d'Erlenmeyer stérilisés, bouchés à la ouate, et contenant 10 à 15 grammes de soude caustique. L'un des flacons est conservé à 15°-18°, à une température un peu plus basse qu'à l'Institut Pasteur. La virulence persiste ainsi quelquefois jusqu'à 10 jours. L'autre flacon va à la glacière, et la moelle qu'il contient est traitée le lendemain comme la moelle fraîche.

L'émulsion se fait en prenant pour chaque personne 1 à 1,5 millim. de moelle, qu'on place dans un petit tube à essai récemment flambé, et qu'on délaye avec de l'eau distillée additionnée de 7 grammes par litre de sel marin. Nous avons trouvé cette solution salée préférable aux bouillons chargés de peptones, qui, comme je l'ai démontré (V. ces *Annales*, t. II, p. 626), favorisent la formation des abcès sous l'influence des bactéries pyogènes qui peuvent pénétrer accidentellement aux points d'inoculation.

Tous les tubes destinés aux émulsions de moelle sont rangés en ordre dans un porte-tubes, et on y puise au moyen d'une seringue Straus, dont le piston de rechange est fait avec un morceau de papier à cigarette stérilisé à la vapeur. Chaque personne reçoit un cent. cube de liquide ; les tout petits enfants reçoivent un demi-cent. cube des moelles de 4, 3 et 2 jours.

Le premier jour, on fait 2 vaccinations avec les moelles de 12 et 10 jours ; le second jour, 2 vaccinations avec les moelles de 8 et 6 jours ; les jours suivants, 1 vaccination avec les moelles de 4, 3, 6, 4 et 3 jours. Quand le temps est chaud, nous commençons par la moelle de 10 jours et nous finissons par celle de 2 jours, que nous employons deux ou une fois, suivant la gravité de la morsure.

Statistique. — Depuis le commencement du traitement à Varsovie, c'est-à-dire depuis le 17/29 juin 1886 jusqu'au 1er janvier 1889, 676 personnes ont subi le traitement, savoir :

En 1886	104
1887	255
1888	317
Total	676

On peut les partager en diverses catégories, suivant la façon dont a été constatée la rage de l'animal mordeur.

	1886	1887	1888	Total.	Morts.
A Rage constatée par l'expérience.	12	44	36	92	2
B Id. par la rage des animaux mordus en même temps . . .	11	17	11	39	»
C Rage constatée par l'autopsie. .	17	54	79	150	1
D Rage constatée par symptômes rabiques[1].	41	99	156	296	5
E Morsures d'animaux suspects de rage	19	33	32	84	1
F Morsures d'animaux qu'on n'a pas retrouvés	»	7	3	10	»
G Morsures d'animaux observés et restés sains.	1	1	»	2	»
H Mains égratignées, salies par la bave d'un chien enragé. . . .	2	»	»	2	»
I Personne ayant sucé la plaie d'une morsure rabique	1	»	»	1	»
Totaux.	104	255	317	676	9

Les personnes des catégories G, H et I ont été traitées sur leur demande.

On peut classer suivant le lieu de la morsure.

	1886	1887	1888	Total.	Morts.
Mordus à la tête	3	17	28	48	5
— sur des parties nues . . .	77	136	210	423	4
Mordus à travers des vêtements déchirés	24	102	79	205	»
Totaux	104	255	317	676	9

1. Les symptômes reconnus rabiques par nous sont les suivants :

1° Le chien mord sans cause apparente d'autres animaux et les personnes qu'il connaît bien;

2° Il disparaît après avoir mordu quelqu'un;

3° Il vagabonde en mordant personnes et animaux;

4° Il est inquiet, boit et mange d'une façon anormale et s'arrête après quelques gorgées ou quelques coups de dent;

5° Le timbre de ses aboiements est changé et passe au hurlement;

6° Il peut presque toujours boire et n'est pas hydrophobe;

7° La mort survient après une paralysie, ou 1 à 2 jours d'accès furieux;

8° L'estomac contient des choses non comestibles (pailles, sable, poils, etc.).

Voici enfin les tableaux statistiques de mes vaccinations dans les deux dernières années, en adoptant le classement en usage à l'Institut Pasteur.

1887	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	1	7	»	7	10	»	»	»
— multiples	»	6		»	3		»	»	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	6	»	»	7	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	3	»	»	»	»	»
Morsures aux mains — simples	»	16	30	»	45	88	»	15	24
— multiples	»	14		»	43		»	9	
Cautérisations efficaces	15	»	»	5	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	14	»	»	60	»	»	16	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	23	»	»	8	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	14	24	»	35	55	»	6	17
— multiples	»	10		»	20		»	11	
Cautérisations efficaces	»	»	»	3	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	10	»	»	36	»	»	7	»	»
Pas de cautérisation	14	»	»	16	»	»	10	»	»
Habits déchirés	36	»	»	41	»	»	25	»	»
Morsures à nu	25	»	»	142	»	»	16	»	»
Totaux			61			153			41

1888	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	2	4		11	20	»	0	4
— multiples	»	2			9		»	4	
Cautérisations efficaces	»	»	»	1	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	2	»	»	7	»	»	1	»	»
Pas de cautérisation	2	»	»	12	»	»	3	»	»
Morsures aux mains — simples	»	20	36		60	155	»	11	18
— multiples	»	16			95		»	7	
Cautérisations efficaces	15	»	»	10	»	»	3	»	»
— *inefficaces*	21	»	»	76	»	»	4	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	69	»	»	11	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	5	7		22	60	»	8	13
— multiples	»	2			38		»	5	
Cautérisations efficaces	»	»	»	3	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	2	»	»	20	»	»	4	»	»
Pas de cautérisation	5	»	»	37	»	»	9	»	»
Habits déchirés	9	»	»	98	»	»	5	»	»
Morsure à nu	38	»	»	137	»	»	30	»	»
Totaux			47			235			35

REVUES ET ANALYSES

SUR LE DOSAGE DES ACIDES LIBRES DU SUC GASTRIQUE

REVUE CRITIQUE.

BIDDER et SCHMIDT. Les sucs digestifs de la nutrition. Leipzig, 1852. — RABUTEAU. *Bull. de la Soc. de Biologie*, 1874, p. 96 et 400. — CAHN et VON MERING. *Deutsch. Archiv fur klin. Medicin*, t. 39, p. 239. — CH. RICHET. Le suc gastrique chez l'homme et les animaux. Paris, 1878. — SEEMANN. Sur la présence d'acide chlorhydrique libre dans l'estomac. *Zeitschrift f. klin. Medicin*, t. 12, p. 248. — J. SJOQVIST. Sur une nouvelle méthode d'analyse quantitative de l'acide chlorhydrique libre dans l'estomac. *Zeitschr. f. phys. Chemie*, 1889, t. 13, p. 1.

On sait les discussions nombreuses des physiologistes au sujet de la nature de l'acide libre de l'estomac, les uns tenant exclusivement pour l'acide chlorhydrique, les autres pour l'acide lactique, d'autres, moins nombreux, faisant intervenir l'acide butyrique ou le phosphate acide de chaux. La discussion aurait pu s'éterniser, car tout le monde avait raison suivant le temps ou suivant les circonstances. Il n'y a nécessairement aucune identité entre les sucs gastriques ou les liquides stomacaux de tous les animaux d'une même espèce; un estomac à jeun ne ressemble pas non plus à un estomac plein ou à un estomac dont la digestion vient de se terminer; les divers aliments y apportent des matériaux divers : la chair musculaire introduit des lactates, le lait ou les féculents des matériaux très aptes à subir la fermentation lactique ou butyrique. Il y a donc suc gastrique et suc gastrique. Le problème de sa constitution n'est pas de ceux qu'on résout une fois pour toutes. Il exige une série d'études de détail, qui conduiront d'autant plus vite à la solution qu'elles seront plus simples et plus précises.

Simplicité et précision, deux qualités qui s'excluent d'ordinaire, et surtout lorsque la vie est un des facteurs du problème ! Il est rare, en physiologie, qu'une méthode simple soit aussi une méthode exacte ; il faut, en général, choisir. Nous pouvons trouver un nouvel exemple de ce fait dans un examen rapide des diverses méthodes qui ont été proposées pour apprécier la nature et la quantité de l'acide libre du suc gastrique.

Je ne veux pas remonter jusqu'à Proust, dont la méthode a pourtant inspiré quelques-unes de celles que nous rencontrerons tout à l'heure. Je commencerai par celle de Bidder et Schmidt. Elle revient,

comme on sait, à évaluer d'abord, au moyen d'un dosage acidimétrique, la quantité d'acide libre dans l'estomac. Supposons-la équivalente à 1 gramme d'acide chlorhydrique. Dans ce suc neutralisé, on dose, par précipitation par le nitrate d'argent en liqueur acidulée par l'acide nitrique, tout le chlore contenu. Supposons, par exemple, qu'il corresponde à 3 grammes d'acide chlorhydrique. Ce chlore peut être soit à l'état libre, soit combiné avec des bases de façon à former des sels neutres. On croit être sûr que, s'il y a des bases, il se combinera avec elles tant qu'il en rencontrera, et que l'excédant seul sera à l'état libre. Il n'y a donc, pour faire cette distribution du chlore total combiné, qu'à chercher ce qu'il y a, dans le suc gastrique, de bases capables de se combiner avec l'acide. Supposons qu'elles ne correspondent qu'à 2gr,5 du chlore trouvé, nous conclurons donc qu'il y a une portion du chlore à l'état libre, c'est-à-dire donnant un acide qui ne peut guère être que l'acide chlorhydrique. Et si la quantité d'acide chlorhydrique, ainsi trouvée, correspond, à peu près, à la dose d'acide libre fournie par la première opération, nous pourrons conclure que le suc gastrique ne contient que de l'acide chlorhydrique libre.

Je dis à peu près, car il y a bien des côtés défectueux dans la théorie et la pratique de ce procédé. Le dosage acidimétrique de ces liquides organiques ne se fait pas avec la même sécurité que dans les liquides minéraux ; le virage de la teinte, qui correspond à la neutralisation, au lieu d'être brusque, est en général lent et graduel, à cause des relations intimes qui s'établissent entre les acides libres et les matières organiques. Ces relations modifient en outre ce que nous savons, ou plutôt ce que nous croyons savoir sur la façon dont se distribuent les éléments chimiques, dont se partage par exemple le chlore entre les divers corps, minéraux ou organiques, d'une solution aussi complexe que le suc gastrique. De plus, la calcination, par laquelle il faut passer pour doser les bases salifiables de la liqueur, est une opération dangereuse. Au point de vue pratique, on est exposé à y volatiliser des chlorures, surtout du chlorhydrate d'ammoniaque, et toute perte dans ce sens augmentera la valeur de l'excédent de chlore qu'on comptera comme libre. De plus, pendant cette calcination, il peut se former de l'ammoniaque aux dépens de l'azote de la matière organique, ce qui augmente la quantité de base du résidu. Il peut aussi se former, aux dépens du phosphore ou du soufre de la matière organique, des sulfates ou des phosphates qui diminuent la quantité de base à attribuer à l'acide chlorhydrique. Toutes ces incertitudes nuisent au procédé, qui est d'ailleurs d'une exécution longue. Il a pourtant servi à MM. Bidder et Schmidt à démontrer la présence de l'acide chlorhydrique libre dans le suc gastrique.

M. Rabuteau a proposé ensuite une autre méthode de dosage, repo-

sant sur l'emploi d'un sel de quinine, et qui, avec les modifications utiles que lui ont fait subir MM. Cahn et de Mering, conduit à la pratique que voici. On distille avec précaution 50cc du suc filtré de l'estomac de façon à l'amener à 10cc. On admet qu'on a ainsi éliminé les acides gras, ce qui est très inexact s'il s'agit de l'acide acétique, et l'est moins, mais l'est encore pour l'acide butyrique et les acides volatils supérieurs. On agite six ou huit fois le résidu avec 300cc d'éther, qui dissout l'acide lactique. Ce résidu épuisé est ensuite additionné de cinchonine, et mis à digérer à une douce chaleur, jusqu'à neutralisation complète. On agite ensuite avec 200cc de chloroforme qui dissout le sel de cinchonine, on distille ce chloroforme, et on calcule, d'après la quantité de chlore trouvé dans le sel en solution, la quantité initiale d'acide chlorhydrique.

Une autre méthode de Cahn et Méring vise à la séparation et au dosage des divers acides de l'estomac. Une première distillation aux 3/4, qu'on fera bien de répéter si on veut séparer la presque totalité des acides volatils, permet de les doser par titrage et en bloc. Au moyen de l'éther, on sépare du résidu l'acide lactique, qu'on titre de la même façon, et qui est éventuellement mêlé d'acide acétique s'il y en avait dans le suc, ou des autres acides fixes apportés par l'alimentation. Dans le résidu lavé à l'éther, on trouve l'acide chlorhydrique que l'éther n'a dissous qu'en proportion très faible, et dont la quantité est fournie par un nouveau titrage, en admettant, bien entendu, qu'il n'y ait pas d'autre acide insoluble dans l'éther. On voit combien d'éventualités se cachent derrière la simplicité apparente de la méthode.

M. Richet a essayé de rendre plus précise cette méthode de traitement par l'éther, en y introduisant la considération de ce qu'il appelle, avec M. Berthelot, les coefficients de partage, c'est-à-dire les rapports entre les quantités d'acide qui se dissolvent dans des volumes égaux d'éther aqueux et d'eau éthérée, quand on agite avec de l'éther une solution aqueuse de cet acide. Les acides insolubles ou peu solubles dans l'éther restent naturellement dans l'eau, les acides plus solubles se partagent plus également entre les deux dissolvants. Quand on a un mélange d'acides, chacun se comporte comme s'il était seul. On comprend donc, sans que nous entrions dans les détails, qu'il soit ainsi possible, par un simple titrage acidimétrique de l'eau et de l'éther surnageant, de voir si l'acide du suc gastrique appartient, comme l'acide chlorhydrique, à la catégorie de ceux qui sont très peu solubles dans l'éther, ou, comme l'acide lactique et en général les acides organiques, à la catégorie de ceux qui y sont beaucoup plus solubles.

Malheureusement, cette méthode, acceptable quand les acides à étudier sont en simple solution dans l'eau, l'est beaucoup moins quand il y a en présence des matières organiques. Celles-ci contractent, comme

nous l'avons dit plus haut, des espèces de combinaisons instables avec l'acide chlorhydrique et en masquent les propriétés. Il suffit de faire macérer une muqueuse lavée avec de l'eau acidulée par de l'acide chlorhydrique pour voir l'acidité du liquide se réduire de quantités variables suivant la nature de la muqueuse, et qui, lorsqu'on compare par exemple sous ce rapport les muqueuses lavées des quatre poches stomacales du mouton, sont au minimum avec la muqueuse du feuillet, c'est-à-dire du véritable estomac à réaction acide, comme si la muqueuse qui sécrète le plus d'acide était précisément celle qui en consomme le moins pour s'en imprégner. A cette première cause d'erreur ou d'incertitude, il faut ajouter que l'acide lactique n'est généralement pas seul avec l'acide chlorhydrique dans le suc stomacal, qu'il y a fréquemment de ces acides encore mal connus, se rapprochant de l'acide gluconique, que donnent presque constamment les matières féculentes sous l'influence des ferments, et que, dès lors, la valeur du coefficient de partage, sur laquelle on fonde la distinction de l'acide lactique, ne peut plus donner aucun renseignement précis.

Voici maintenant deux procédés dans lesquels on ne se préoccupe plus de séparer, à l'aide de réactifs appropriés, les divers éléments à doser, ce qui permet à la rigueur de les manier, de les voir, de les étudier, et de s'assurer de leur pureté. On les détruit par la chaleur, et on juge d'eux par la nature des résidus qu'ils laissent. Dumas a fait remarquer depuis longtemps combien cette méthode d'analyse, qui supprime la possibilité de tout contrôle, est inférieure à l'autre, mais de ce jugement général il serait injuste de conclure à tous les cas particuliers. Étudions donc ces méthodes, et voyons ce qu'elles valent.

Elles utilisent toutes deux les effets différents de la calcination sur les sels à acides organiques et à acides minéraux. Les premiers laissent un résidu alcalin, les autres un résidu d'ordinaire neutre. En particuliers, les chlorures calcinés restent des chlorures, les lactates deviennent des carbonates.

Partant de là, M. Seemann sature une certaine quantité de suc gastrique avec un volume déterminé d'une solution titrée décime de soude, évapore doucement le mélange neutralisé, et le calcine ensuite avec précaution. Il lave les cendres à l'eau, et titre avec une solution titrée d'un acide l'alcali ainsi retiré. Cet alcali était combiné à des acides organiques qu'on regarde comme libres dans le suc, tant qu'il y a un acide plus fort, de sorte qu'on peut prendre, pour mesure de la quantité d'acide chlorhydrique présente, la différence entre les quantités d'acide fournies par le premier dosage acidimétrique et celles qui correspondent à l'acide employé après calcination.

En essayant cette méthode, M. Sjoqvist a trouvé qu'elle donnait toujours des nombres trop forts. C'est qu'elle comporte de nombreuses

causes d'erreur. M. Seemann avait remarqué lui-même que, si on chauffe trop fort, on a des pertes d'alcali. Il doit y avoir aussi formation de cyanures alcalins qui en neutralisent une autre portion. Le soufre et le phosphore de la matière albuminoïde donnent en outre des sulfates et des phosphates, non préexistant en nature, qui absorbent un peu de soude. Aussi M. Sjoqvist propose-t-il la modification suivante.

On évapore à siccité le suc gastrique avec un léger excès de carbonate de baryte qui sature les acides libres, et donne par exemple des chlorures et des lactates. A la calcination, le chlorure de baryum reste inaltéré, les lactates redeviennent des carbonates. En épuisant avec de l'eau de carbonate, le baryum reste insoluble, les chlorures se dissolvent, et la quantité de baryum qu'ils contiennent peut servir de mesure à la quantité d'acide chlorhydrique libre.

Pour doser ce baryum, il le précipite à l'état de chromate de baryte dans une solution acidulée par l'acide acétique, dans laquelle on verse une solution titrée de bichromate de potasse. On surveille le moment où tout le chromate de baryte est précipité et où il y a un excès de bichromate de potasse dans la liqueur, en humectant avec quelques gouttes de liquide le papier au tétraméthylparaphénylènediamine proposé par le D[r] Wurster comme réactif de l'ozone. Après quelques secondes de contact, le bichromate oxyde le réactif et le papier devient bleu. Voici alors le mode opératoire, qui peut être utile à connaître à un moment où on s'occupe beaucoup de l'excès et de l'insuffisance des acides dans l'estomac.

La dissolution de chlorure de baryum, qui peut contenir éventuellement du chlorure de calcium et des chlorures alcalins, est additionnée d'un tiers ou d'un quart de son volume d'alcool, qui favorise la précipitation du chromate de baryte. On ajoute ensuite quelques centimètres cubes d'une solution de 10 0/0 d'acétate de soude et de 10 0/0 d'acide acétique, de façon à éviter la précipitation du chromate de chaux, et à empêcher éventuellement la formation d'acide chlorhydrique libre qui redissoudrait le chromate de baryte insoluble dans l'acide acétique étendu. On verse alors peu à peu la solution titrée de bichromate de potasse, jusqu'au moment où une bande de papier réactif plongée dans la liqueur, et retirée, bleuit après quelques secondes d'exposition à l'air. On peut aussi, si on n'a pas de ce papier, humecter de temps en temps d'une goutte du liquide un morceau de papier buvard, et faire au voisinage de cette première tache une autre tache avec une solution de nitrate d'argent. S'il y a du bichromate en excès, on en est averti par la formation d'un précipité jaune rougeâtre de chromate d'argent dans la région où les deux taches se pénètrent.

On pourrait objecter à cette méthode que la calcination du carbonate de baryte, si elle est faite sans précaution, donne de la baryte

caustique, qui entre en solution dans l'eau et est dosée comme baryte du chlorure. Mais M. Sjoqvist s'est assuré que cette cause d'erreur était insignifiante. Il en est de même de la cause d'erreur apportée par la faible solubilité du carbonate de baryte dans l'eau. Par contre, on n'a plus rien à redouter du soufre et du phosphore de la matière albuminoïde, qui donnent des sulfates et carbonate de baryte insolubles.

En fait, les expériences de contrôle faites par M. Sjoqvist sont probantes. Il a opéré avec des mélanges artificiels d'acide lactique et d'acide chlorhydrique, et a toujours retrouvé ce dernier à un ou deux milligrammes près. Il a aussi retrouvé son acide chlorhydrique, et à peu près avec la même précision, quand il l'a ajouté à une digestion artificielle de fibrine dans de la pepsine acidulée par l'acide lactique. Ceci donne de l'intérêt aux résultats suivants, relatifs à l'étude de quelques sucs gastriques. L'acidité totale est calculée en acide chlorhydrique.

N° 1	Mauvaise digestion.	Acid. totale	0,15 °/₀	Hcl.	0,02 °/₀
N° 2	Réaction acide.	id.	0,29		0.13
N° 3	id.	id.	»		0,076
N° 4	id.	id.	0,2		0,13
N° 5	id.	id.	0,29		0,14
N° 6	id.	id.	0,19		0,16
N° 7	id.	id.	0,14		0,0

Dx

LE PASSAGE DES MICRO-ORGANISMES AU FŒTUS.

REVUE CRITIQUE.

BIRCH-HIRSCHFELD. Sur l'infection par le placenta. 61e *Versammlung deutscher Naturforscher in Köln*, sept. 1888. — ROSENBLATH. Sur la réalité du passage des bacilles du charbon de la mère au fœtus. *Virchow's Archiv*, 2 mars 1889. — PALTAUF. Sur l'étiologie de la maladie des chiffonniers. *Wiener medic. Wochenschr.*, 1888, nos 18-26. — EPPINGER. Anatomie pathologique et pathogénie de la maladie des chiffonniers. *Wiener medic. Wochenschr.* 1888, nos 37-38. — CHAMBERLAND et ROUX. La vaccination charbonneuse par les substances solubles. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1888. — C. J. EBERTH. Le micro-organisme du typhus passe-t-il au fœtus? *Fortschr. der Medic.*, n° 5, 1889. — NETTER. Transmission intra-utérine de la pneumonie et de l'infection pneumonique chez l'homme et dans l'espèce animale. *Soc. de Biologie*, 9 mars 1889. — GALTIER. Hérédité de la tuberculose animale. *Congrès pour l'étude de la tuberculose*, 1888.

Depuis la publication dans ces *Annales*, il y a un an, des quelques expériences que j'ai faites sur la transmission intraplacentaire des

micro-organismes, divers auteurs ont continué l'étude de cette question si importante à tant de titres. Les uns ont encore une fois demandé au bacille de Davaine la solution du problème, d'autres ont interrogé des microbes qui jusqu'à présent avaient été moins essayés à ce point de vue, tels que le bacille de la tuberculose, le pneumocoque, le microbe de la fièvre typhoïde.

Deux observateurs allemands, *Birch-Hirschfeld* et *Rosenblath* nous fournissent quelques nouvelles preuves expérimentales de la réalité du passage du bacille charbonneux de la mère à l'embryon. Bien que ces auteurs ne nous signalent aucun fait qui n'ait été démontré déjà et n'émettent au sujet de leur interprétation aucune idée qui n'ait été produite avant eux, leurs données n'en sont pas moins intéressantes à consigner, ne fût-ce que pour établir une fois de plus combien se confirment les résultats de Straus et Chamberland, au fur et à mesure que le problème est plus creusé et mieux étudié. On se souvient peut-être que Max Wolff, de Berlin, dans un travail que j'ai analysé ici même, avait très injustement ravalé la valeur des expériences des deux savants français, tout simplement parce qu'il obtenait des résultats différents de ces derniers. *Birch-Hirschfeld* et *Rosenblath* s'élèvent contre cette assertion de Wolff que le placenta constituerait en général une barrière infranchissable pour le bacille du charbon. Bien au contraire, il résulte des expériences du professeur de Leipzig, comme de celles de Straus et Chamberland, de Rosenblath et des miennes, qu'il y a toujours lieu de craindre, pour le fœtus, dans le charbon, une invasion bacillaire. *Birch-Hirschfeld*, chez les fœtus de lapines charbonneuses, a retrouvé les bactéridies, *même par l'examen microscopique*, ce qui indique que les micro-organismes, dans ces cas, avaient passé en quantité plus grande que d'habitude à travers le placenta. Il a également observé le passage chez la chèvre; au contraire, résultats négatifs chez trois souris. *Birch-Hirschfeld* explique ce dernier fait par la rapidité de l'infection mortelle chez les petits animaux : les effractions placentaires n'ont pas alors le temps de se produire : l'auteur allemand émet en effet l'opinion que le passage des bactéries à l'embryon se fait à la suite de lésions des villosités du placenta : c'est ce que j'ai démontré ici même.

Le travail de *Rosenblath* présente des conclusions du même genre. Ses expériences ne sont guère ni nombreuses, cinq en tout, ni nouvelles, et on peut même se demander si la longueur du mémoire n'en dépasse pas quelque peu l'importance. Quoi qu'il en soit, *Rosenblath* a de nouveau inoculé le charbon à des cobayes pleines; il a recherché surtout par l'examen histologique et par les cultures, moins par les inoculations à d'autres animaux, si les fœtus contenaient des bactéridies. Mais une même faute capitale est à reprocher au travail

de *Rosenblath* comme à celui de *Wolff* : tous deux, en effet, pour établir leur démonstration, dans un sens ou dans l'autre, se contentent d'ensemencer de tout petits fragments d'organes fœtaux. Mais, à supposer que les résultats soient négatifs, que peut-on en conclure? N'oublions pas qu'il faut prouver, si on veut tirer des conséquences doctrinales de ces expériences, *que pas un bacille ne passe au fœtus*. Comme le disent excellemment MM. Chamberland et Roux, dans leur beau travail sur la vaccination charbonneuse par les substances solubles, si on se borne à ensemencer de petites parcelles d'organes, et si on n'obtient rien dans les cultures, qui nous prouve que la bactéridie n'est pas restée dans les parties non semées? J'ai obtenu, dans mes expériences, des résultats positifs en ensemençant tout un foie fœtal par exemple, broyé dans l'eau stérilisée, alors que je n'avais rien en ne cultivant qu'un fragment d'organe.

MM. Chamberland et Roux ont fait la même constatation, puisque dans des expériences portant sur dix-sept fœtus de lapines charbonneuses, en utilisant presque toute la masse du foie de chacun d'eux, neuf fois il y avait des bacilles dans cet organe. C'est justement parce que les anciens observateurs, Brauell, Davaine, etc., se sont contentés de piquer le cœur des fœtus à la lancette et d'inoculer la très petite quantité de sang adhérente, qu'ils ont toujours pensé, à la suite de leurs résultats négatifs, que le placenta était imperméable pour les bactéridies.

Or, Wolff et Rosenblath n'ont pas prévu cette cause d'erreur. C'est pour cela que les conclusions négatives de Wolff n'ont pas grande valeur, et qu'au contraire, par contre-coup, les résultats positifs de Rosenblath eussent été encore plus frappants, s'il avait pris le soin d'ensemencer autre chose que de petites parcelles fœtales. Cet auteur a examiné cinq cobayes charbonneuses contenant neuf fœtus; il a fait, en tout, 76 cultures de la rate, du foie et du sang : cinq cultures ont été positives, dont quatre pour l'organe hépatique, ce qui prouve, une fois de plus, que c'est bien dans le foie qu'il faut aller chercher les microbes suspects, en cas d'infection fœtale. Ces cinq cultures provenaient de trois fœtus et de trois animaux différents; donc, chez deux femelles les fœtus n'ont rien donné, mais Rosenblath a ensemencé trop peu de matière pour que ces résultats négatifs soient probants.

Un grand nombre de coupes microscopiques ont été examinées : les bacilles ont été trouvés seulement dans deux coupes provenant du foie d'un fœtus. Si maigre qu'il soit, ce résultat est d'un intérêt qui saute aux yeux, puisque les microbes, passés à l'embryon sont ici pris sur le fait. C'est, du reste, chez un fœtus qui avait fourni des cultures du bacille du charbon que cette constatation a été faite.

Pour expliquer ces résultats, l'auteur ne va pas, comme Wolff, jusqu'à invoquer la possibilité de contaminations accidentelles ; il a foi dans son habileté technique et n'hésite pas à conclure que le bacille de Davaine passe de la mère au fœtus par voie transplacentaire.

Il se livre ensuite à quelques considérations théoriques sur le mécanisme de cette infection fœtale. Il expliquerait volontiers le passage par des hemorragies du placenta : « Mais, dit-il, jusqu'à aujourd'hui, il n'existe aucune observation qui démontre la réalité de ce mécanisme. » L'auteur allemand se trompe : j'ai signalé et décrit, dans ces *Annales*, des hémorragies placentaires chez les cobayes charbonneuses dont les fœtus m'avaient donné des résultats positifs [1].

On a décrit en Autriche une maladie qui ressemble beaucoup au charbon, et qui a été observée chez les ouvriers qui manipulent les chiffons, notamment dans les papeteries. C'est vraisemblablement l'inhalation de poussières infectées qui produit l'affection. *Paltauf* a trouvé dans le poumon d'un fœtus d'une femme enceinte de cinq mois et atteinte de cette maladie, quelques bacilles semblables à ceux des organes maternels. Ce fait est à rapprocher de l'observation de Marchand, rapportée dans les *Archives de Virchow* de l'an dernier. Par contre, *Eppinger* n'a eu que des résultats négatifs dans deux cas du même genre.

Pour en finir avec cette question du passage du charbon au fœtus, disons qu'il est grand temps que le sujet soit maintenant envisagé d'une autre façon. Il est inutile de discuter plus longtemps sur la réalité ou la non réalité de cette transmission : c'est une question tranchée, et toutes les expériences qu'on pourrait faire encore ne feraient que confirmer la démonstration magistrale de Straus et Chamberland. Il importe maintenant de se placer à un point de vue différent : il faut établir les conditions, les influences qui font que les bactéridies ne se comportent pas toujours de la même façon vis-à-vis de l'embryon, rechercher à nouveau le rôle joué par les variations de la virulence, par les diverses époques de la grossesse, éprouver la susceptibilité des diverses espèces animales vis-à-vis du même virus, etc., etc. Si Rosenblath avait entrepris ses expériences en envisageant ainsi la question, peut-être nous eût-il présenté des résultats plus nouveaux ? Il rapporte en effet une expérience (expérience II) où les deux seules cultures faites avec des fragments de foie fœtal ont été positives ; ce foie montrait du reste des bacilles à l'examen microscopique. Il est regrettable qu'il soit resté près d'un an, comme l'indiquent ses protocoles, avant d'entreprendre une nouvelle expérience à la suite de celle-là ; peut-être, s'il avait continué à opérer avec ce charbon, sans doute

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, mars 1888.

particulièrement virulent, eût-il réussi à obtenir une infection fœtale plus constante que dans les conditions habituelles.

A la suite de Reher, Neuhauss, Chantemesse et Widal, *C. J. Eberth* nous signale une nouvelle observation de passage au fœtus du micro-organisme de la fièvre typhoïde. Une femme enceinte, atteinte de cette affection, avorte d'un fœtus à la fin de la troisième semaine de la maladie. L'auteur fait des cultures du sang, du poumon et de la rate de ce fœtus. Les préparations de sang fœtal, du suc de la rate, montraient déjà des bâtonnets; il y en avait aussi dans les espaces intervilleux du placenta. Le bacille de Gaffky, caractérisé sur pomme de terre, s'est développé dans les cultures fœtales. *Eberth* n'a jamais trouvé, chez d'autres fœtus provenant de mères non typhiques, de micro-organismes de ce genre. Cet observateur interprète, lui aussi, ces résultats par des altérations placentaires.

Le pneumocoque serait, de son côté, capable de passer de la mère à l'enfant. Foa et Bordone-Uffreduzzi avaient déjà signalé cette transmission chez le lapin; Thorner, chez l'homme. *Netter* vient de publier l'observation la plus complète et la mieux étudiée qui ait encore paru sur cette question. Il a réussi à trouver le pneumocoque de Fraenkel répandu dans un grand nombre d'organes chez un enfant de cinq jours dont la mère avait été atteinte de pneumonie franche. Cet enfant succomba à une pneumonie à droite, avec manifestations méningées, pleurales, et péricarditiques. Ayant observé lui-même, dans ses expériences, le passage de pneumococcus au fœtus chez le cobaye et la souris, *Netter* conclut, à la suite de considérations fort bien présentées, que cette pneumonie infectante d'un nouveau-né a été acquise dans le sein de la mère et n'a pu l'être après la naissance. Il se base surtout sur ce fait que l'infection était généralisée chez le fœtus et non pas seulement localisée au poumon. *Netter* ne nous dit pas s'il a retrouvé des microcoques dans le foie fœtal, là où se déverse le sang de la veine ombilicale; dans l'affirmative, la démonstration de l'origine maternelle de l'infection n'y aurait rien perdu.

Il reste à signaler, pour en finir avec les travaux relatifs au sujet qui nous occupe, la communication de *Galtier* au Congrès de la tuberculose. Inoculant le virus tuberculeux à des femelles de cobayes, à une époque plus ou moins avancée de la gestation, puis sacrifiant l'animal et pratiquant des inoculations avec les organes du fœtus, *Galtier* a été moins heureux que MM. Landouzy et Martin, et sur neuf expériences, aucune n'a réussi; il n'a pas obtenu de meilleurs résultats en inoculant des tissus du fœtus d'une vache tuberculeuse qui avait avorté. Dans une

deuxième série de recherches, il a pratiqué des inoculations au début de la gestation, puis, conservé les petits pour les sacrifier après. Une lapine, inoculée le quinzième jour après l'accouplement, eut cinq petits; trois sur cinq, qui tous avaient été allaités par elle, devinrent tuberculeux. Enfin, en inoculant par voie intraveineuse une lapine quatre à cinq jours après l'accouplement, on ne trouva aucune lésion tuberculeuse chez les petits, tandis que la mère mourut de tuberculose. La transmission par voie intra-utérine semble donc bien exister, suivant Galtier, mais elle est loin d'être commune.

On discutera longtemps encore sur la fréquence ou la rareté de la contagion tuberculeuse introplacentaire, tant qu'on manquera, comme aujourd'hui, d'une quantité suffisante de documents cliniques ou expérimentaux. Il est à désirer que des expériences, comme celles de Galtier, se multiplient. Je rapporte, dans le présent numéro des *Annales*, deux cas de tuberculose congénitale dans l'espèce bovine, avec présence des bacilles de Koch au sein des lésions, observations qui m'ont paru constituer une importante contribution à l'histoire de la tuberculose héréditaire. Dr. E. Malvoz.

N. Rogowitsch. Études sur l'influence des bacilles du charbon symptomatique sur l'organisme animal. *Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie*, publiés par *Ziegler* et *Nauwerck*, V. IV, Fasc. 4, p. 291.

M. *Rogowitsch* a entrepris dans le laboratoire de M. *Ziegler* et sous la direction de ce professeur, des recherches sur le charbon symptomatique, afin d'éclairer les phénomènes histologiques qui accompagnent l'infection avec le virus de différents degrés de virulence, et de résoudre la question du rôle possible de la phagocytose dans le cours de la maladie. Pour atteindre ce but, l'auteur inoculait à une série de cobayes le virus (à l'état de poudre sèche, livrée par M. *Hess* de Berne), sous la peau, et suivait la marche de l'infection, en sacrifiant les animaux à différents stades de la maladie ou en les observant après la mort.

Aussitôt après l'inoculation, les bacilles commencent à proliférer au point d'inoculation, de sorte que trois heures après le début de l'expérience, leur nombre est déjà assez considérable. Il se produit en même temps une inflammation du tissu environnant, qui s'accuse par une émigration leucocytaire considérable, formée notamment de leucocytes polynucléaires.

Les bacilles se propageant fort rapidement, surtout dans les tissus sous-cutané et musculaire, occasionnent, dans la paroi des vaisseaux, des lésions graves qui se manifestent sous forme d'œdèmes ou d'extravasations sanguinolentes, accompagnés par une émigration plus ou

moins abondante de leucocytes. L'affection se transmet aux glandes lymphatiques environnantes qui se gonflent et deviennent rouges, ou sont atteintes par des hémorragies plus ou moins abondantes. Ces lésions s'observent même dans les glandes qui ne contiennent point de bacilles, ce qui prouve qu'elles sont occasionnées par des substances toxiques sécrétées par les bacilles. Quant aux organes internes, ils restent pour la plupart intacts et laissent seulement dans quelques cas apercevoir des petits foyers nécrotiques (dans le foie) ou des hémorragies limitées.

Le virus affaibli, appliqué par M. *Rogowitsch* aux cobayes, a produit des lésions tout à fait semblables à celles occasionnées par le virus le plus virulent. L'auteur croit cependant que les premières sont accompagnées chez les animaux adultes d'une plus forte émigration de leucocytes, pour un même degré dans l'importance de l'œdème et des hémorragies.

Les deux vaccins, fournis à M. *Rogowitsch* également par M. *Hess*, ne produisaient chez les cobayes que des phénomènes purement locaux et bénins, et ne s'accompagnaient que d'une légère tuméfaction autour de l'endroit inoculé, occasionnée par une émigration abondante de leucocytes. L'auteur n'a pas obtenu de prolifération de bacilles et il en conclut que la vaccination doit être produite par une substance soluble, conformément à l'assertion de plusieurs auteurs récents.

Outre les cobayes, M. *Rogowitsch* a expérimenté encore avec trois rats blancs, qui n'ont manifesté que des lésions strictement locales, accompagnées d'une suppuration et d'un développement de bacilles très faible et concentré au point d'inoculation.

A la fin de son mémoire M. *Rogowitsch* aborde la question de la relation entre les bacilles et les cellules de l'organisme, notamment les phagocytes. Dans les cas observés par lui, la phagocytose, dit-il, était presque toujours absente, et ses raisons sont que les bacilles se trouvaient souvent aux endroits où il n'y avait pas de leucocytes et, ensuite, que même dans les cas où les deux éléments étaient l'un à côté de l'autre, les leucocytes ne contenaient presque jamais des bacilles. M. *Rogowitsch* n'a trouvé qu'une exception à cette règle générale. Chez un cobaye qu'une infection avec du charbon symptomatique avait laissé vivant pendant cinq jours, et qui fut tué à la fin de cette période, il a trouvé une grande quantité de leucocytes polynucléaires remplis de bacilles. L'auteur ne veut pas expliquer ce phénomène à l'aide de la théorie des phagocytes, et il préfère recourir à une immunité individuelle relative du cobaye en question, et à un affaiblissement des bacilles eux-mêmes. Cette immunité individuelle est pourtant en parfait accord avec la théorie citée ; quant à l'affaiblissement des bacilles, cette supposition est réfutée par le fait que l'inoculation avait été pratiquée

par le même virus fort de M. *Hess*, qui a tué promptement les autres cobayes de M. *Rogowitsch*.

En acceptant comme exacts les faits de cet observateur, il serait bien facile de les réconcilier avec la théorie qu'il rejette. L'absence du phagocytisme, dans les cas où la mort a été rapide, résulterait de l'incapacité des leucocytes à englober les parasites, comme cela a lieu chez les rongeurs atteints de charbon, et chez les lapins et les oiseaux envahis par le microbe du choléra des poules. Dans tous ces exemples, l'inactivité des phagocytes est suivie par la mort certaine et rapide de l'animal malade. Dans le cas exceptionnel du cobaye de M. *Rogowitsch*, la réaction formidable de l'organisme a été accompagnée par un phagocytisme très prononcé, qui pourrait s'expliquer par une aptitude exceptionnelle des phagocytes à englober les bacilles.

L'absence du phagocytisme chez les cobayes inoculés avec des vaccins s'expliquerait très facilement par le fait que la poudre employée ne contenait presque pas de bacilles, mais bien des spores, dont les relations avec les cellules n'ont point été étudiées par M. *Rogowitsch*. La même explication pourrait s'appliquer aux rats, qui ont aussi été inoculés avec de la poudre virulente, il est vrai, mais renfermant presque exclusivement des spores. Les bacilles peu nombreux qui ont été trouvés par l'auteur, pouvaient bien être des bacilles morts avant l'inoculation (comme il s'en trouve dans la poudre sèche) et dédaignés par les phagocytes comme dans le cas de M. *Lubarsch*[1], lorsqu'il injectait des grenouilles avec des bactéridies mortes.

L'application de la théorie des phagocytes au charbon symptomatique serait d'autant plus admissible, que la résistance des tissus de l'organisme envahi par les bacilles de cette maladie a été déjà démontrée en général par MM. *Roux* et *Nocard*[2], dans leur travail remarquable qui a été complètement ignoré par M. *Rogowitsch*.

Il serait donc bien facile d'interpréter avec la théorie phagocytologique, les assertions de l'auteur cité, mais peut-être n'est-ce pas nécessaire de chercher des interprétations, car d'après mes observations la phagocytose n'apparaît point comme exception chez les cobayes et les rats, inoculés avec du virus du charbon symptomatique, mais bien comme une règle générale. Parmi 21 cobayes morts à la suite de cette maladie, il ne s'en est trouvé qu'un seul chez lequel je n'aie pu trouver des leucocytes contenant des bacilles. Ordinairement le nombre de ces phagocytes plus ou moins remplis par des bacilles est tellement considérable qu'une seule préparation colorée suffit pour s'en convaincre. Souvent, on trouve à côté des bacilles englobés fortement colorés

1. *Fortschritte d. Medicin*, 1888, p. 126.
2. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. I., 1887, p. 257.

par le bleu de methylène, d'autres individus de la même espèce (*Bacillus Chauvaei*) presque ou complètement décolorés. Quelquefois les leucocytes ne contiennent que les derniers, ce qui rend alors plus difficile de reconnaître la nature bactérienne des bâtonnets englobés.

Chez trois rats blancs et une grenouille, inoculés non avec le virus en poudre, mais avec la pulpe musculaire d'un cobaye, mort du charbon symptomatique, le nombre des leucocytes contenant des bacilles était très considérable. On peut donc conclure que la phagocytose après l'infection par les bacilles du charbon symptomatique est loin d'être exceptionnelle, comme l'admet M. *Rogowitsch*.

METCHNIKOFF.

C. LUDERITZ. Sur la connaissance des bactéries anaérobies. *Zeitschr. f. Hygiene*, t. V, p. 140.

L'étude et la culture des anaérobies préoccupent de plus en plus les savants en Allemagne, mais cette étude à laquelle ils pourraient faire faire de grands progrès n'avance guère entre leurs mains, à cause de l'imperfection des méthodes. Ainsi M. Luderitz a surtout employé, dans son travail, la méthode de Liborius [1], qui consiste à verser, sous une épaisseur de 7 à 9 centimètres, une couche de gélatine ou de gélose nutritive dans un tube à essai, à faire bouillir de façon à en chasser tout l'air, et à refroidir rapidement dans la glace jusqu'à la température de 30 à 40° à laquelle on fait l'ensemencement. On répartit également les germes dans la gélatine liquide qu'on met à l'étuve.

Comme je l'ai fait remarquer à plusieurs reprises, cette pratique, qui vise à obtenir l'ensemencement dans un liquide désaéré, ne donnerait absolument rien avec un bouillon léger, non gélatinisé, qui se débarrasserait bien de son oxygène par l'ébullition, mais le reprendrait rapidement par refroidissement, et cela, dans toute son épaisseur. Avec les milieux gélatinisés, cette épaisseur joue un rôle, parce que la substance est légèrement oxydable. Les premières couches pénétrées par l'oxygène le gardent en partie pour elles, et le laissent moins facilement passer dans les profondeurs. Il doit se passer là quelque chose d'analogue à ce qu'on observe dans du lait qu'on a enfermé dans un tube à essai, et que sa couche de crème superficielle protège contre la pénétration de l'oxygène. Mais malgré tout, le milieu dans lequel M. Luderitz fait son ensemencement ne doit pas être absolument débarrassé de ce gaz. Il est vrai que les anaérobies purs se développent

1. V. ces *Annales*, t. I, p. 311.

de préférence dans le fond du tube, les indifférents à n'importe quelle hauteur, les aérobies de préférence à la surface. Mais le classement des microbes par la profondeur à laquelle ils arrêtent le développement de leurs colonies, n'aurait de valeur que si cette profondeur variait peu. Or, il n'en est pas ainsi. M. Luderitz a remarqué, par exemple, qu'elle dépend du nombre des germes ensemencés. On le comprend sans peine; quand ils sont nombreux, ils peuvent absorber plus rapidement et plus complètement l'oxygène du milieu et rapprocher leurs colonies de la surface. Mais ce n'est sans doute pas la seule action en jeu, il doit y avoir une influence de la température, de la qualité de la gélatine, que l'expérience photographique nous prouve être plus ou moins oxydable, de la rapidité mise dans la conduite de l'opération, etc.

En outre de cette méthode, M. Luderitz a aussi utilisé celle de M. Fraenkel[1], la culture dans des tubes à essai, recouverts d'une couche roulée de gélatine nutritive et remplis d'hydrogène. Il la trouve moins commode et moins instructive.

La commodité n'est pas tout. M. Luderitz décrit avec soin les divers aspects que prennent dans la gélose, la gélatine, après dilution des germes dans le milieu nutritif, ou ensemencement par piqûre, cinq espèces de bacilles, qu'il appelle *Bacillus liquefaciens magnus*, *liquefaciens parvus*, *radiatus*, *solidus* et *spinosus*. Il est impossible de résumer et il faut aller chercher dans le texte la description qu'il en donne. Nous craignons fort que si exacte qu'elle soit, elle n'atteigne pas son but, qui est de fournir une diagnose assez précise du microbe étudié, pour qu'on puisse le reconnaître.

Il faut pour cela autre chose que des cultures en surface et en profondeur, même accompagnées d'une longue prose descriptive et des meilleurs dessins. On aimerait bien mieux savoir quels sont les aliments que le microbe préfère, et les transformations qu'il leur fait subir, et c'est ce que M. Luderitz ne nous dit pas, parce que sa méthode ne peut guère lui apprendre quelque chose sur ce sujet. Il a vu seulement que l'addition d'un peu de sucre augmentait généralement le dégagement gazeux donné par ses microbes, qui étant anaérobies, sont en même temps ferments. Mais de quoi est fait dans chaque cas ce dégagement gazeux, voilà ce que nous aurions eu intérêt à connaître, parce qu'on aurait pu y trouver des caractères différentiels, et voilà ce que M. Luderitz ne nous dit pas, parce que la méthode de Liborius ne comporte pas cette étude. Comme nous le disions en commençant, c'est le défaut de bonnes méthodes qui empêche des travaux estimables et consciencieux comme celui de M. Luderitz de prendre dans la science le rang auquel ils pourraient prétendre. Dx.

1. V. ces *Annales*, t. II, p. 333.

P. Canalis. — Sur la désinfection des wagons ayant servi au transport des animaux. *Giorn. d. R. Soc. Ital. d'Hygiène,* 1889.

Comme toutes les questions d'hygiène, celle de la désinfection des wagons peut être considérée à deux points de vue. Faut-il la faire à fond, de façon à amener la stérilisation complète des parois intérieures et extérieures? Ou peut-on se contenter d'une propreté relative, et, sans vouloir supprimer absolument toutes causes de contamination dans les wagons, se contenter de les amener au niveau de ce qu'elles sont en plein air ou dans les étables ordinaires?

Les hygiénistes, qui pontifient volontiers, ont presque toujours préconisé la première solution et, dans cette poursuite de l'absolu, ont trop souvent dédaigné les questions d'exécution et d'économie. Les praticiens, de leur côté, les ingénieurs, les administrateurs, tous ceux pour lesquels les décisions données comme souveraines de la science se présentaient sous la forme d'une carte à payer, trouvaient en général qu'on allait trop loin, qu'on leur demandait des choses difficiles ou impossibles. Quand ils étaient malins, ils laissaient passer sans protester les propositions des hygiénistes, se disant, *in petto*, que tout ce qui est trop difficile à faire ne dure pas quand on ne le fait pas avec une bonne volonté qu'ils se proposaient bien de n'y pas mettre. Mais quand ils sentaient suspendu sur leur tête un réglement de police ou d'administration publique, ils cherchaient à transiger, à obtenir des tempéraments ou des concessions.

Comme ils tenaient les cordons de la bourse, ils ont généralement fini par l'emporter. La plupart des pratiques de désinfection, si on les envisage au sens absolu du mot, sont tout à fait inefficaces. En dehors de l'emploi de la chaleur, qui ne peut pas être appliquée partout et à tout, il n'y a guère de méthode donnant une stérilisation complète; on pourrait même soutenir, sans trop s'éloigner de la réalité, que presque tous les règlements d'hygiène publique ont été rédigés pour donner satisfaction à la *galerie* plutôt qu'aux nécessités qui les ont fait naître.

Prenons, pour ne pas nous éloigner de notre sujet, la désinfection des wagons. On les soumet en France, par décret, d'abord à un nettoyage et à un raclage superficiels, puis à un lavage à grande eau suivi d'un brossage avec une brosse dure, après quoi vient une désinfection qui peut être, au choix des Compagnies, fait avec une solution à 2 0/0 de chlorure de zinc, ou de sulfate de zinc, ou d'acide phénique. Il est trop clair qu'on reste ainsi très éloigné de la stérilisation et de la désinfection complète.

En Allemagne, nous retrouvons, après le nettoyage préliminaire,

l'emploi d'une solution d'acide phénique à 5 0/0, ou, ce qui vaut mieux, un jet de vapeur d'eau chargé de gouttelettes d'eau bouillante pour réduire autant que possible l'effet du refroidissement des parois. Mais là encore, il n'y a pas de stérilisation absolue. L'acide phénique à 5 0/0 est incapable de tuer les spores charbonneuses. Quant à l'eau chaude, même quand elle est à 100°, elle respecte beaucoup de spores et de microbes; à plus forte raison quand elle a subi l'action refroidissante des parois, si variable suivant les circonstances.

En Autriche, est prescrit l'usage de la vapeur d'eau à deux atmosphères, projetée contre les parois, ou bien un lavage à l'eau chauffée au moins à 70°, et additionnée de 5 grammes de potasse caustique. On ne voit pas bien l'utilité de cette vapeur d'eau chauffée à 120°, quand on songe qu'à très petite distance de l'orifice du jet, la vapeur retombe brusquement à 100° par suite de la chaleur absorbée par l'expansion qu'elle subit. Il faut dire, du reste, que ces opérations préliminaires ne sont destinées qu'à rendre plus facile un nettoyage à l'eau simple, et que la stérilisation véritable, ou du moins l'opération qui est destinée à la produire, se fait au moyen d'une solution d'acide phénique à 2 0/0 et de sulfate de fer à 5 0/0! Le règlement est beaucoup plus sage et plus sûr quand il prescrit, pour les wagons à parois pleines, l'emploi de fumigations de chlore durant au moins 2 heures en été et 12 heures en hiver.

En Angleterre, on trouve l'esprit pratique d'une nation qui ne se paie pas de mots, et qui n'aime les gênes commerciales que chez les autres. Toutes les fois que cela est possible, elle engage la responsabilité de l'envoyeur, et se retourne de son côté, quand il arrive un accident par sa faute. Dans les autres cas, elle nettoie, lave, et blanchit à la chaux non pas tout le wagon, mais les parties qui ont eu le contact de la tête de l'animal ou de ses déjections. *Time is money.*

En Russie, nous retrouvons l'emploi de l'eau chaude, et ensuite d'une solution de sulfate de fer; en Belgique, un jet de vapeur et un lavage soit avec une solution de carbonate de soude à la température de 70°, soit avec une solution à 10 0/0 de chlorure de zinc, ou d'acide phénique à 2 ou 5 0/0.

Il est clair, par tout ce que nous ont appris les recherches déjà nombreuses sur ces antiseptiques, qu'aucun de ces procédés n'est topique et ne constitue une véritable méthode de stérilisation. Est-ce à dire qu'ils soient inutiles, et qu'on ait eu tort de les préconiser et de les employer? En aucune façon. S'ils ne font pas tout, ils font quelque chose et ceci donne raison au théoriciens de l'hygiène. Jusqu'ici ce quelque chose a suffi, et ceci donne raison aux praticiens qui ont réduit à ces modestes proportions les réquisitions parfois peu discrètes des hygiénistes.

Ce n'est pourtant pas une raison pour ne pas chercher à trouver

mieux. En Italie, où il n'y a pas encore de règlement pour la désinfection des wagons, l'administration de la santé publique, représentée par son directeur, M. Pagliani, s'est préoccupée de faire examiner la question au point de vue purement scientifique, et il a chargé de ce travail M. Canalis, qui en publie aujourd'hui les résultats.

La méthode employée consiste à limiter sur la paroi à étudier, un carré de 36 centimètres carrés au moyen d'un cadre de papier, et de laver ensuite, avec un ou plusieurs fragments d'éponge fine préalablement stérilisée, toute la portion de la paroi restée à découvert jusqu'à 1 centimètre des bords du cadre. On enlevait donc ainsi tout ce qui se trouvait à l'intérieur d'un carré de 4 centimètres de côté, soit sur une surface de 16 centimètres carrés.

Les éponges humides, préalablement comprimées entre deux pinces stérilisées, étaient promenées sur la surface jusqu'à ce que celle-ci parût propre, puis immergées dans de la gélatine à 10 0/0, et les germes comptés suivant la méthode d'Esmarch. Il est clair qu'on n'enlève pas ainsi tous les germes de la paroi, que l'éponge ne cède pas au liquide tous ceux qu'elle a rapportés, que le liquide ne nourrit pas tous ceux que l'éponge lui cède, etc. Mais il est clair aussi que si nous recommençons l'opération après avoir soumis le wagon à une pratique antiseptique quelconque, la comparaison expérimentale, faite avant et après l'opération, nous renseignera utilement sur la valeur antiseptique de l'opération elle-même. Il est clair aussi que nous pourrons, en pratiquant ce lavage à l'éponge en divers points du wagon, nous faire une idée de la façon dont y sont distribués les germes.

Nous ne pouvons pas entrer ici dans le détail des expériences faites par M. Canalis. Je me contente de dire que leur lecture inspire la confiance partout, sauf en ceci : pour comparer, en chaque point, le nombre des spores au nombre total des germes vivants, M. Canalis compare le nombre des colonies développées dans deux tubes d'une même gélatine chargées des germes d'une même éponge, et dont l'un a été maintenu 5 minutes à 70°. Je ne sais pas ce qui autorise M. Canalis à croire que ce séjour à 70° ne respecte guère que les spores. Mais cela n'altère pas ses conclusions qui sont les suivantes.

En premier lieu, le toit du wagon est infiniment moins riche en germes que les parois, et sur celles-ci, il y en a d'autant plus qu'on s'approche davantage du plancher du wagon. Pour en donner un exemple, sur la même surface de 16 centimètres carrés on trouvait, dans un wagon, sur la paroi de tête, 18,486 bactéries à 40 centimètres du plancher; 3,561 à 10 centimètres du plafond, et 6 sur le plafond lui-même.

Relativement aux désinfectants, M. Canalis, qui cherchait un moyen facile à employer et peu coûteux, n'a guère étudié qu'une solution

d'acide phénique à 5 0/0, additionnée de 5 grammes par litre d'acide chlorhydrique, et des solutions à 1 gramme, 2gr5 et 5 grammes par litre de bichlorure de mercure, additionnées aussi de 5 grammes par litre d'acide chlorhydrique. Il ne dit pas si ces 5 grammes sont en acide chlorhydrique réel ou en solution commerciale d'acide chlorhydrique.

Quoi qu'il en soit, ses expériences confirment ce qu'on savait sur l'insuffisance de la solution phéniquée. Il a trouvé aussi inefficace la solution à un millième de sublimé, mais avec les solutions à 1gr,5 ou à 2 grammes par litre, on obtient une stérilisation complète de la paroi, ou au moins la réductiou de ces germes à un chiffre minime. On peut même, avec ces liqueurs, se dispenser d'un lavage préliminaire à l'eau froide ou chaude, qu'il vaut pourtant évidemment mieux employer quand on le pourra sans grands frais. En somme, il recommande comme pratique efficace, après le balayage du plancher, un raclage des parois avec un racloir quelconque, et un lavage à la brosse dure, imbibée d'une solution de sublimé à 1gr,5 par litre, ou d'eau chaude, ou même d'eau froide, jusqu'à ce que les parois apparaissent propres; enfin, une dernière irrigation avec la solution de sublimé à 1gr,5 projetée par un irrigateur quelconque. L'opération est courte et peu coûteuse. Aux préoccupations que pourrait faire naître l'emploi d'un agent toxique aussi puissant, M. Canalis répond en disant qu'à Messine, dans la dernière épidémie cholérique, on a usé et fait passer par des mains inexpérimentées plus de 400 kilogrammes de sublimé, sans qu'il en soit résulté aucun cas d'empoisonnement.

Dx.

L. Adametz. *Saccharomyces lactis*, nouvelle espèce de levure faisant fermenter le sucre de lait. *Centralbl. f. Bact*, t. V, 1889, p. 116.

M. Adametz décrit dans ce travail une nouvelle espèce de levure faisant fermenter le sucre de lait. Quand je dis nouvelle, je n'en suis pas bien sûr. Cela est possible, mais le contraire est possible aussi, comme disent les casuistes. M. Adametz a pourtant cherché de son mieux à élucider cette question, en faisant des cultures comparées de sa levure et de la mienne[1] dans différents milieux. Après avoir ainsi constaté des ressemblances et des différences, il s'attache surtout à ces dernières. Je voudrais dire pourquoi ressemblances et différences me semblent également douteuses.

1. V. ces *Annales*, t. I, p. 573.

Les ressemblances sont surtout apparentes dans les cultures sur milieux solides, et, à ce propos, M. Adametz décrit avec soin les aspects que prend sur ces milieux la levure que j'ai décrite, parce que, dit-il, « ces aspects n'ont pas été décrits suffisamment, au moins dans la littérature allemande ». Ils n'ont pas davantage été décrits dans mon mémoire. C'est que je n'ai trouvé aucun intérêt à la culture de la levure sur gélatine, tant qu'il ne s'agit pas, bien entendu, d'arriver à une séparation d'espèces. Les aspects macroscopiques de ces cultures de levures diverses se ressemblent beaucoup. Ce sont, à l'intérieur de la gélatine, des masses opaques, blanches, rondes, sans caractères bien nets. Ensemencées par piqûres, le développement le long du trajet de l'aiguille varie avec la façon dont se fait le développement superficiel, c'est-à-dire avec la température, la quantité de sucre, le degré héréditaire de vie aérobie ou anaérobie. Sur de la gélatine préparée avec du moût de bière, la levure de M. Adametz, par exemple, pousse très bien, s'étend rapidement à la surface, en présentant une surélévation légère en son centre, et le long de la piqûre, où la levure se multiplie rapidement aussi, partent dans toutes les directions de fins rayons normaux, atteignant une longueur de 1 à 2 millimètres. « La levure de Duclaux ne montre pas ces rayons caractéristiques. » Si c'est un caractère distinctif, on avouera qu'il est bien peu accusé, et je suis convaincu que M. Adametz, s'il multiplie ses essais, trouvera qu'il est également fugace.

Au point de vue microscopique, les cultures sur gélatine ont un autre inconvénient, c'est que dans une même colonie, les grosseurs des globules sont très inégales. Les derniers formés manquent sans doute de nourriture, du moins ils restent très petits. D'autres prennent des formes de souffrance. La disproportion entre les générations successives est surtout marquée lorsque les colonies sont nombreuses et se disputent la matière alimentaire. Elle s'efface quand les colonies sont rares. Dans les évaluations de M. Adametz, les cellules de sa levure, cultivées dans de la gélatine peptone, ont une largeur qui varie de 4,5 μ à 6 μ, une longueur variable de 6 à 8 μ. Il y a en outre des cellules rondes, qu'il appelle, on ne sait pourquoi, bourgeons isolés, et dont le diamètre varie de 3 à 4 μ. La mienne est ronde. Le diamètre moyen des cellules de moyenne grosseur qui sont les plus nombreuses est de 3 μ, celui des plus petites de 2 μ, celui des plus grosses de 4 à 5 μ. Mais dans le moût de bière, elles s'allongent et deviennent plus grosses. M. Adametz tire de là la conclusion que, rien qu'au microscope, la confusion des deux levures est impossible. Nous ne saurions pas plus accepter cette raison de différence que les raisons de ressemblance que nous avons signalées plus haut.

Nous terminerons par une dernière observation. M. Adametz étudie un ferment alcoolique du sucre de lait. Or, il n'y a dans son mémoire

ni un dosage de sucre, ni un dosage d'alcool, rien qui permette par conséquent de savoir si le sucre dont il constate la disparition, au moyen de la liqueur de Fehling, a subi une fermentation alcoolique ordinaire, ou a été seulement brûlé par la levure, dont le caractère aérobie est si nettement accusé. M. Adametz annonce cette étude pour plus tard, mais elle lui aurait été déjà bien utile pour expliquer quelques-unes des singularités qu'il a observées. Ainsi, il trouve que la levure de Duclaux fait fermenter plus rapidement le lait que la sienne, et pourtant que celle-ci détruit plus complètement le sucre que l'autre. D'où vient cela ? est-ce un hasard d'observation érigé en règle générale? Y a-t-il une influence de la vie aérobie ou anaérobie ? J'ai vu que ma levure, qui fait fermenter rapidement tous les sucres, à un degré d'aération où les autres levures mèneraient surtout une vie aérobie et brûleraient intégralement une portion plus ou moins considérable de sucre sans le faire fermenter, fait fermenter plus facilement le sucre de lait lorsqu'il est en surface que lorsqu'il est en profondeur. J'incline à croire que M. Adametz a rencontré des phénomènes de cet ordre, et là encore je trouve ses conclusions mal étayées. Il se peut que le travail définitif soit assis sur des bases plus solides, mais alors, je me demande quel avantage présentent ces communications préliminaires, incomplètes parce qu'elles sont trop hâtives.

Dx.

T. Carnelley et T. Wilson. Nouvelle méthode pour déterminer le nombre des microorganismes de l'air. *Proceed. of the Royal Society*, t. XLIV, p. 455, 1889.

Cette méthode est une modification de celle de Hesse, qui exige un appareil encombrant, coûteux et difficile à stériliser. MM. Carnelley et Wilson le remplacent par un matras conique à fond plat, fermé par un bouchon de caoutchouc percé de deux trous. Par l'un de ces trous, passe un tube vertical ayant 20 centimètres de long, 1 centimètre de large et enfoncé à moitié longueur, c'est le tube d'entrée de l'air; il est fermé par un tube de caoutchouc et une baguette de verre plein. Le second tube, plus étroit, est recourbé en U à l'intérieur du matras, et la branche de l'U qui traverse le bouchon porte une ou deux bourrés de coton. C'est le tube de sortie, sur lequel on fixe le tube de l'aspirateur.

Dans le matras on introduit 10^{cc} de gélatine-peptone, et on stérilise le tout dans la vapeur à 100°. Tant que la gelée est encore chaude, on la fait courir sur les parois du matras pour y recueillir les gouttelettes de vapeur condensée qui ultérieurement pourraient se réunir et couler à la surface de la gélatine où elles seraient une cause de trouble et

d'erreurs. C'est aussi pour éviter l'effet de cette condensation de buée qu'on prend aussi large le tube d'arrivée de l'air. Avec un tube plus étroit on aurait une gouttelette adhérente au fond du tube, qui pourrait retenir au passage quelques-uns des germes de l'air.

On manœuvre l'aspirateur de façon à ne pas dépasser la vitesse indiquée par Hesse, de 1 litre en 3 minutes. Quand on a fait passer un volume d'air connu au travers du matras, on ferme le tube d'arrivée avec un bouchon et on rapporte à l'étuve. D'ordinaire les germes se déposent plus ou moins directement sous l'orifice du tube d'entrée, et il n'y en a pas sur les parois du vase, malgré la couche de gelée qu'elles portent, ce qui semble prouver qu'il n'en sort pas par l'orifice de sortie. Il n'y en a qu'une fraction insignifiante retenue contre les parois du tube d'entrée, et les nombres fournis par cette méthode sont en général d'accord avec ceux de la méthode de Hesse, toutes les fois qu'on opère dans un air calme. Quand il y a du vent, il en pénètre dans le tube de Hesse qui n'est pas amené par l'aspirateur, et l'appareil nouveau semble davantage à l'abri de cette cause d'erreur. Quand l'atmosphère est hétérogène, il n'y a d'ailleurs plus de comparaison possible.

Le côté défectueux de cette méthode, comme de celle de Hesse, est que les germes se déposent à la surface de la gélatine, que le courant d'air a pu dessécher ou oxyder, et s'y trouvent dans de moins bonnes conditions de développement que s'ils étaient immergés dans la matière nutritive. Il faut d'ailleurs un aspirateur pour mettre en train une expérience. Il me semble qu'on simplifierait notablement toutes ces pratiques et qu'on améliorerait le procédé en remplissant à l'avance le matras d'acide carbonique ou d'hydrogène, et en le stérilisant en cet état. Il n'est pas difficile d'imaginer un dispositif simple qui, au moment de l'expérience, permettrait d'absorber avec un peu de potasse l'acide carbonique, ou de faire écouler par le haut l'hydrogène au travers d'une bourre de coton et d'une pointe effilée. Le gaz disparu serait remplacé par de l'air, qui, abandonné à un parfait repos, laisserait tomber sur le fond plat du vase tous les germes qu'il peut contenir, et que l'emploi d'un milieu à la gélatine permettrait de compter. Il resterait à tenir compte de ceux que la gélatine ne peut nourrir, mais, comme on sait, personne ne s'est guère préoccupé encore de ces germes. On opère comme un statisticien qui, voulant compter la population dans diverses villes où les races seraient diversement mêlées, ne compterait dans chaque cas que les blancs, et se frotterait les mains quand il aurait trouvé quelques unités de plus qu'au recensement précédent.

Dx.

G. Bordoni-Uffreduzzi. Deux années de cure Pasteur. *Rapport au Syndic de Turin*, 1889.

Dans ce rapport volumineux, M. Bordoni-Uffreduzzi rend d'abord hommage aux efforts faits par M. le professeur Pacchiotti, pour populariser en Italie la méthode Pasteur, et à la part qu'a prise M. le Syndic di Sambuy à la fondation de l'Institut antirabique municipal de Turin. Il passe ensuite en revue le passé de la méthode Pasteur et les connaissances acquises jusqu'ici sur les propriétés biologiques du virus rabique, connaissances auxquelles il joint le résultat de ses propres expériences sur la vaccination des chiens, pleinement confirmatives de celles de M. Pasteur, et contribuant avec elles à donner une base expérimentale solide à la méthode de prévention de la rage après morsure.

M. Bordoni-Uffreduzzi arrive ensuite à sa statistique. Depuis la fin de septembre 1886 jusqu'au 1er janvier 1889, il a vacciné 531 personnes, dont 241 appartenaient à la série A de nos tableaux mensuels, 245 à la série B, et 45 à la série C. Il faut remarquer la proportion considérable de mordus de la première série, pour lesquels la rage de l'animal mordeur a été constatée par l'expérience du laboratoire, ou par la mort d'autres animaux ou personnes mordues en même temps. Cela tient à ce que le plupart des collègues italiens de M. Bordoni-Uffreduzzi ont l'obligeance et la sagesse de lui envoyer le plus souvent, en même temps que les personnes mordues, le cadavre de l'animal mordeur, ou au moins un peu de la moelle épinière conservée dans de la glycérine neutre. L'augmentation des chiffres de la première série amène naturellement la diminution relative des nombres des deux autres.

Sur ces 531 vaccinés, il y a eu 10 morts, ce qui porte la mortalité moyenne à 1,88 p. 0/0. Mais à ce sujet, M. Bordoni-Uffreduzzi fait observer que, dans sa statistique, on peut distinguer deux périodes. Une première période, finissant en avril 1887, comprend 353 personnes ayant subi l'ancien traitement simple de M. Pasteur, légèrement modifié pour les cas les plus graves ; cette période, à elle seule, compte 9 morts. La deuxième période comprenait au 1er janvier 1889 178 personnes traitées par la méthode nouvelle, et ne comprend encore qu'un mort. La mortalité moyenne, qui était de 2,54 p. 0/0 dans la première période, est donc tombée à 0,56 p. 0/0 dans la seconde, par une modification dans la méthode de traitement ; c'est ce qui a été observé partout.

Une autre statistique intéressante de M. Bordoni-Uffreduzzi met

aussi en évidence cette gravité plus grande des morsures à la tête et aux parties nues, qui résulte de l'observation générale. Les 531 personnes traitées se divisent ainsi à ce point de vue :

Morsures sur des parties nues . . .	série	A,	162	—	6 morts.
— — —	—	B,	137	—	4 —
— — —	—	C,	23	—	0 —
— sur des parties couvertes,	—	A,	79	—	0 —
— — —	—	B,	108	—	0 —
— — —	—	C,	22	—	0 —

Enfin, une dernière statistique met en évidence l'inutilité des cautérisations.

Dx.

J. Darnet. La rage. *Buenos-Aires*, 1889.

Sous ce titre. M. J. Darnet, adjoint au laboratoire antirabique de Buenos Aires, a fait un gros livre dans lequel se trouvent réunis et discutés presque tous les travaux publiés jusqu'ici sur la question, et qui contient en outre le résultat des recherches personnelles de l'auteur sur divers points.

L'ouvrage se termine par la statistique très complète des vaccinations antirabiques faites à Buenos Aires depuis le mois de septembre 1886, époque de la fondation du laboratoire. L'origine des vaccins a été un lapin de 119e passage, apporté du laboratoire de M. Pasteur par M. Davel, qui renouvela les inoculations pendant la traversée et arriva à Buenos Aires avec un lapin de 122e passage. Jusqu'au mois de septembre 1888, on y a fait 83 nouveaux passages, et vacciné 286 personnes. Il n'y a eu que deux morts. En les répartissant parmi les 250 personnes qui, vaccinées depuis quelques mois, peuvent être considérées comme hors d'affaire, on trouve une mortalité de 0,80 pour cent. M. Darnet se félicite et félicite avec raison la méthode Pasteur de ce résultat.

Dx.

Vaccinations contre la rage faites au laboratoire microbiologique municipal de Barcelone par M. le Dr *Ferran*.

Nous transcrivons ici, comme document intéressant, et tel que nous le recevons, c'est-à-dire sans commentaires, un tableau statistique

arrêté au 31 mars 1889, des vaccinations antirabiques faites à Barcelone par M. le Dr Ferran :

Groupe A, rage de l'animal mordeur constatée par l'expérience faite au laboratoire.	90
Groupe B, rage de l'animal mordeur constatée par des observations médicales ou vétérinaires.	107
Groupe C, mordus par des animaux suspects de rage. .	242
En tout. . . .	439

Sur lesquels il n'y a qu'un mort.

En outre M. Ferran a vacciné 110 chiens contre la rage et n'a eu aucun mort.

Vaccinations contre le quartier (charbon symptomatique) faites en Suisse.

Le tableau suivant, emprunté à M. Strebel, vétérinaire, permet de se faire une idée de l'extension qu'a prise dans les 5 dernières années, la vaccination contre le charbon symptomatique dans le canton de Fribourg, des pertes qu'amène cette maladie parmi les animaux vaccinés et non vaccinés alpés dans les pâturages plus ou moins dangereux de cette région, et de l'avantage de la vaccination préventive.

	Vaccinés.	Morts.	Mortalité.	Non vaccinés.	Morts.	Mortalité.
1884	743	2	0.27 %	4.480	134	3 %
1885	2.812	4	0.15	4.000	115	2.87
1886	1.275	1	0.08	4.036	80	2 »
1887	1.725	4	0.23	4.484	103	2.30
1888	2.086	4	0.19	4.000	59	1.48
	8.641	15	0.17	21.000	491	2.34

Le chiffre des pertes pour les cinq années a donc été en moyenne près de 14 fois plus grand chez les animaux non vaccinés que chez les vaccinés.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE[1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — MARS 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	»	1	»	1	4	»	»	2
Morsures à la tête et à la figure — multiples	»	1		»	3		»	2	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	2	»	»	1	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	2	»	»	1	»	»
Morsures aux mains — simples	»	19	32	»	21	53	»	8	21
Morsures aux mains — multiples	»	13		»	32		»	13	
Cautérisations efficaces	»	»	»	6	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	13	»	»	11	»	»	8	»	»
Pas de cautérisation	19	»	»	36	»	»	12	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	2	7	»	11	35	»	2	9
Morsures aux membres et au tronc — multiples	»	5		»	24		»	7	
Cautérisations efficaces	1	»	»	1	»	»	2	»	»
— *inefficaces*	3	»	»	13	»	»	3	»	»
Pas de cautérisation	3	»	»	21	»	»	4	»	»
Habits déchirés	7	»	»	31	»	»	9	»	»
Morsures à nu	»	»	»	4	»	»	»	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	2	2	»	3	3	»	»	»
Cautérisations efficaces	»		»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	1	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	2	»	»	2	»	»	»	»	»
Habits déchirés	2	»	»	2	»	»	»	»	»
Morsures à nu	2	»	»	3	»	»	»	»	»
Totaux. Français et Algériens	..	39	42	..	75	95	..	19	32
Totaux. Etrangers	..	3		..	20		..	13	
	A			B			C		
TOTAL GÉNÉRAL				169					

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 157 fois ; chats, 10 fois ; vaches, 2 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. MAI 1889. N° 5

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA TUBERCULOSE INTESTINALE CHEZ L'HOMME,

Par le Dr N. TCHISTOVITCH, de Saint-Pétersbourg.

(Travail du laboratoire d'anatomie pathologique de M. le professeur Cornil.)

Nous n'avons en vue, dans ce travail, que les lésions tuberculeuses de l'intestin, et nous laisserons de côté les troubles pathologiques non spécifiques de cet organe.

La découverte du bacille de la tuberculose par Koch a naturellement provoqué des travaux nouveaux sur la tuberculose intestinale. Koch (1) lui-même constate, dans son célèbre Mémoire, la présence des bacilles tuberculeux dans les granulations intestinales, et dit que le nombre de bacilles est surtout considérable dans les granulations fraîches, de date récente.

MM. Cornil et Babès (2) ont examiné, quelque temps après l'apparition du premier travail de Koch, la topographie des bacilles dans les parois de l'intestin. Ils ont trouvé une grande quantité de bacilles dans les parties superficielles et dans le tissu réticulé de la muqueuse épaissie, dans celui de la couche sous-muqueuse, et dans les foyers tuberculeux situés autour des vaisseaux. Ils ont également vu des bacilles dans les tubercules qui étaient disposés entre les faisceaux musculaires.

L'année suivante, en 1884, Wesener (3) a publié ses recher-

ches sur la distribution des bacilles dans les organes des tuberculeux. Il a notamment trouvé une très grande quantité de bacilles dans les bords des ulcérations tuberculeuses de l'intestin, et a attiré l'attention sur ce fait que les bacilles se trouvent surtout nombreux dans les tissus accessibles à l'air (cavernes pulmonaires, ulcérations intestinales). Mais, d'après Wesener lui-même, cette règle souffre beaucoup d'exceptions, et l'auteur dit avoir rencontré une grande masse de bacilles dans le foie, les ganglions mésentériques, les capsules surrénales.

Nous trouvons ensuite dans le mémoire de Baumgarten (4), consacré principalement à l'étude de la tuberculose expérimentale, une description détaillée du développement de la tuberculose intestinale. Baumgarten a surtout étudié les tubercules de l'intestin qui surviennent chez les animaux soumis à l'ingestion des cultures de bacilles tuberculeux. D'après cet auteur, les tubercules commencent toujours à se développer dans les follicules clos de l'intestin, et ce n'est qu'ensuite qu'ils envahissent les tissus environnants. Sous l'influence de la pénétration des bacilles dans le tissu normal, commence une prolifération des cellules fixes du tissu conjonctif, aussi bien que de celles de la couche épithéliale. La prolifération des noyaux de ces cellules donne ensuite naissance aux cellules épithélioïdes et géantes. Les bacilles qui se sont multipliés dans le tissu de l'organe affecté irritent non seulement les éléments cellulaires, mais ils agissent en même temps sur les vaisseaux du parenchyme infecté, et provoquent de cette façon une immigration inflammatoire de leucocytes qui entourent le tubercule, le pénètrent et le transforment, d'épithélioïde qu'il était, en tubercule à petites cellules, tubercule lymphoïde. Ce tableau peut, du reste, varier, le développement du processus tuberculeux étant en relation avec le degré de virulence des cultures. Baumgarten a même établi pour ces différences une sorte de loi qu'il a formulée de la façon suivante : la formation des cellules géantes est en rapport inverse avec le nombre et l'intensité du développement des bacilles tuberculeux, tandis que le nombre des éléments lymphoïdes est en relation directe avec le nombre et l'énergie vitale de ces bacilles.

Presque en même temps que le mémoire de Baumgarten, ont paru le travail expérimental de Wesener (5) et la dissertation inaugurale de Höning (6).

Wesener n'est pas complètement d'accord avec Baumgarten. A côté des tubercules à cellules épithélioïdes, Wesener admet la présence des tubercules lymphoïdes se formant par l'agglomération des éléments lymphatiques et se transformant consécutivement en tubercules épithélioïdes.

Höning prend pour point de départ de son travail les idées de Köster (7) et de Gottsacker (8), à savoir que l'affection primitive de l'intestin présente un caractère purement inflammatoire, et que c'est sur ce terrain ainsi modifié que les tubercules se développent consécutivement. Pour vérifier cette hypothèse, Höning a examiné, au point de vue de la présence des bacilles, six intestins présentant des ulcérations tuberculeuses, et est arrivé à la conclusion que, dans les affections tuberculeuses chroniques de l'intestin, les bacilles n'apparaissent qu'après la formation des ulcérations, en petit nombre à leur début, et seulement à leur surface. Mais plus l'ulcération est ancienne, plus nombreux deviennent les bacilles et plus profondément ils pénètrent dans l'intérieur des tissus. Dans les follicules clos, Höning n'a jamais trouvé de bacilles.

Dans la thèse de Girode (9) sur les affections de l'intestin chez les tuberculeux, nous trouvons une description histologique des modifications de différents tissus de l'intestin atteint de tuberculose. L'auteur a trouvé des bacilles en grande quantité principalement dans les parties ayant subi la transformation caséeuse. Dans la partie de son travail consacrée à l'anatomie pathologique, Girode s'occupe exclusivement des lésions intestinales ayant débuté à la surface interne de l'intestin, et ne s'arrête pas à celles dont le point de départ a été la surface péritonéale de l'organe.

Enfin, tout dernièrement, Dobroklonsky (10), dans un travail fait au laboratoire de M. Cornil, a démontré, en expérimentant sur des cobayes, que les bacilles tuberculeux peuvent infecter un intestin normal, lors même que sa couche épithéliale reste intacte.

Cette revue rapide des nouveaux travaux sur la tuberculose intestinale nous montre déjà que cette question est loin d'être épuisée, et que les conclusions des différents auteurs ne concordent pas toujours entre elles.

J'ai donc accepté avec reconnaissance la proposition de

M. le professeur Cornil de reprendre l'étude de la tuberculose intestinale pour essayer de combler, autant que possible, les lacunes qui existent dans cette question. Quelques-uns des résultats que j'ai obtenus vont faire le sujet de cet article. Dix intestins atteints de tuberculose, provenant d'autopsies faites par M. le professeur Cornil, m'ont servi pour faire cette recherche.

Voici l'énumération de ces cas.

I. Jeune fille de 18 ans. Lésions tuberculeuses très avancées des deux poumons, avec cavernes aux deux sommets. Ulcérations tuberculeuses de la partie inférieure de l'iléon, surtout nombreuses dans le cœcum. Tuberculose de l'utérus et des trompes.

II. Homme de 40 ans. Infiltration tuberculeuse en foyers, et formation de cavernes dans les deux poumons. Adhérence totale des plèvres. Ulcérations tuberculeuses tout le long de l'intestin, surtout marquées au niveau des plaques de Peyer. Ulcérations très étendues dans le cœcum. Groupes de tubercules correspondant aux ulcérations plus profondes de la surface péritonéale de l'intestin. Lésions très prononcées des ganglions mésentériques.

III. Homme de 55 ans. Grande caverne au sommet droit, entourée de masses tuberculeuses; caverne plus petite à la partie inférieure du lobe supérieur du poumon gauche. Ulcérations tuberculeuses du larynx. Ulcérations dans les parties inférieures de l'iléon et dans le gros intestin. Dans le rectum, grandes ulcérations confluentes. Par places, éruption des tubercules à la face péritonéale de l'intestin.

IV. Jeune femme. Infiltration de la partie supérieure des deux poumons; caverne au sommet droit. Ulcérations profondes et transversales déjà à partir du jejunum, surtout marquées à la partie inférieure de l'iléon. Ulcérations serpigineuses de dimensions considérables dans le gros intestin. A la surface péritonéale, des foyers de tubercules correspondant aux ulcérations profondes.

V. Homme de 54 ans. Tuberculose des deux plèvres; caverne au sommet gauche entourée d'un tissu d'induration. Induration du sommet droit. Péritonite tuberculeuse; une masse énorme de tubercules miliaires sur toute la surface péritonéale de l'intestin, dans le mésentère et le péritoine pariétal. Adhérences étendues des anses intestinales. La muqueuse de l'intestin ne contient pas de tubercules. Epididymite tuberculeuse.

VI. Homme de 55 ans. Tuberculose pulmonaire de deux cotés avec formation de cavernes. Péritonite tuberculeuse avec éruption de tubercules miliaires sur toute la surface péritonéale de l'intestin. Ulcérations des plaques de Peyer et dans le cœcum.

VII. Femme de 30 ans. Cavernes et infiltration tuberculeuse dans les deux poumons. Petit nombre d'ulcérations dans la partie inférieure de l'iléon et dans le cœcum. Quelques dépôts de tubercules miliaires à la surface péritonéale de l'intestin, aux endroits qui correspondent aux ulcérations.

VIII. Homme d'un âge avancé. Adhérences des plèvres sans tubercules visibles. Poumons normaux. Éruption de tubercules sur toute la surface du péritoine, avec épaississement notable du feuillet viscéral qui entoure l'intestin; les tubercules sont, en grande partie, en état de dégénérescence caséeuse. Toute la muqueuse intestinale est infiltrée de sang et l'intestin en est également rempli. Pas de tubercules sur la muqueuse de l'intestin.

IX. Homme de 31 ans. Pleurésie tuberculeuse. Les poumons sont œdémateux; par places, état atélectasique, mais pas de tubercules. Eruption intense de tubercules et masses caséeuses considérables dans le péritoine. Adhérences étendues entre les anses intestinales, avec dépôts fibrineux et une grande quantité de tubercules caséeux dans le péritoine viscéral. La muqueuse de l'intestin est atteinte d'un processus catarrhal simple.

X. Homme adulte. Granulations tuberculeuses très nombreuses dans le poumon gauche; en moindre quantité dans le poumon droit. grande caverne au sommet du poumon gauche qui présente des adhérences nombreuses. Toute la surface du péritoine, aussi bien que la couche péritonéale de l'intestin, est parsemée de tubercules miliaires entourés de zones ecchymotiques ardoisées. Adhérences notables entre les anses intestinales. Hypertrophie des follicules et petites ulcérations superficielles à la partie inférieure de l'iléon.

Le durcissement des préparations pour l'examen microscopique a été obtenu, soit par l'action directe de l'alcool, soit par l'immersion préalable dans le liquide de Müller. La coloration des coupes se faisait d'après la méthode de Ziehl-Neelsen. Quelquefois, pour obtenir avec plus de netteté les relations entre les bacilles tuberculeux et les tissus, je combinais la coloration secondaire par le bleu de méthylène avec la coloration par l'éosine.

D'après la localisation des lésions tuberculeuses, les cas que j'ai examinés peuvent être divisés en 3 groupes. Cinq fois (I, II, III, IV, VII), nous avions des ulcérations tuberculeuses qui occupaient principalement la muqueuse et la couche sous-muqueuse, s'étendant souvent en même temps sur les couches

musculaire et sous-séreuse, le processus tuberculeux restant toujours plus marqué au niveau des couches muqueuse et sous-muqueuse. Trois fois (V, VIII, IX), au contraire, l'éruption tuberculeuse occupait exclusivement la couche sous-séreuse. Deux fois (VI, X), enfin, nous avons trouvé une combinaison des deux variétés précédentes : d'un côté des ulcérations tuberculeuses de la muqueuse pénétrant plus ou moins profondément dans la couche sous-muqueuse, de l'autre une éruption de tubercules miliaires dans la couche sous-séreuse tout le long de l'intestin.

Examinons d'abord le premier groupe. Dans les cas qui appartiennent à cette catégorie, nous avons eu des ulcérations tuberculeuses disséminées le long de l'iléon et dans le cœcum ; une fois déjà à partir du jejunum, une autre fois surtout dans le gros intestin, le rectum compris. Dans l'iléon, ces ulcérations correspondaient habituellement aux plaques de Peyer; dans le cœcum et dans les premières portions du colon ascendant, elles étaient parfois disséminées, en rapport avec les follicules solitaires, mais parfois elles se fusionnaient en formant de vastes surfaces ulcérées. Sur la surface péritonéale de l'intestin, on trouvait parfois des groupes limités de tubercules miliaires; ces groupes correspondaient aux ulcérations de la muqueuse les plus profondes. L'aspect macroscopique des ulcérations tuberculeuses a été décrit tant de fois que je crois inutile d'entrer dans des détails, et je passe directement à l'étude microscopique de ces lésions.

Sur les différentes portions du même intestin, on a pu observer tous les stades de développement du processus tuberculeux, en commençant par la formation d'une petite granulation tuberculeuse et allant jusqu'à l'ulcération profonde. Ainsi dans les parties avoisinantes et dans les bords de l'ulcération, ainsi que dans la profondeur de la couche sous-muqueuse, on trouvait des tubercules jeunes à différents stades de leur développement. Le processus commençait toujours dans la couche muqueuse ou dans la couche adénoïde sous-muqueuse. J'ai figuré, comme un exemple de stade le plus précoce, le début du développement d'un tubercule dans une villosité intestinale (fig. 1, pl. III). Sur cette figure on voit une masse de bacilles situés dans le tissu adénoïde de la villosité, les uns libres, les autres contenus dans l'intérieur des cellules qui se trouvent dans les espaces du tissu réti-

culé. Les cellules épithélioïdes et les cellules géantes n'ont pas encore eu le temps de se former. Les tubercules plus avancés se présentaient sous le microscope, à un faible grossissement (coloration d'après la méthode de Ziehl-Neelsen avec de l'éosine), avec une partie centrale colorée en rose, et un anneau périphérique en bleu. Avec un fort grossissement (Zeiss $^1/_{12}$, immers. homog. Oc. 3), on voyait que la partie centrale de ces tubercules était composée de tissu réticulé coloré en rose par l'éosine, et contenant des cellules épithélioïdes et quelquefois des cellules géantes. A la périphérie on retrouvait l'anneau d'infiltration par des cellules lymphoïdes à noyaux colorés en bleu intense. Les bacilles tuberculeux se trouvaient dans la partie centrale du tubercule, tantôt contenus à l'intérieur des cellules géantes, épithélioïdes et migratrices, tantôt libres dans les espaces du tissu réticulé. Dans la zone d'éléments lymphoïdes, les bacilles étaient en petit nombre ou bien totalement absents. Cette disposition n'existait que dans les tubercules jeunes. Quant au tissu qui entourait les ulcérations, il était totalement infiltré d'éléments lymphoïdes, de corpuscules de pus et d'une masse de bacilles situés entre ces éléments. La quantité de bacilles qu'on trouvait à différentes profondeurs de la paroi intestinale infiltrée de tubercules, n'était pas partout la même : la plus grande quantité de bacilles se trouvait dans les bords et au fond de l'ulcération (Wesener, Höning), mais plus on allait en profondeur, plus leur nombre diminuait. Dans les tubercules situés au-dessous de l'ulcération, dans les parties profondes de la couche sous-muqueuse, le nombre des bacilles était ordinairement beaucoup plus petit ; dans les tubercules intermusculaires, ils devenaient encore moins nombreux ; enfin dans les tubercules sous-séreux qui se rencontraient aux endroits correspondants à des ulcérations très profondes, là où le processus tuberculeux s'était frayé un chemin à travers la couche musculaire, les bacilles étaient en très petite quantité et quelquefois on n'en trouvait qu'un ou deux. Cette diminution du nombre des bacilles, qui se fait de la surface vers la profondeur, dépend probablement de l'ancienneté du processus et des obstacles que rencontrent les bacilles, quand il s'agit de traverser toute l'épaisseur de la couche musculaire. Aussi, dans les couches profondes, les bacilles pénètrent-ils relativement tard, en petit nombre et sans avoir le temps de s'y mul-

tiplier d'une façon notable, les couches muqueuse et sous-muqueuse étant déjà dans un état de destruction avancée et très riches en bacilles. Mais l'obstacle le plus grand à la pénétration des bacilles dans la profondeur est constitué par la couche musculaire, qui dans ce cas joue le rôle d'un filtre naturel bien qu'assez imparfait : tandis que la couche sous-muqueuse pullule de bacilles, on ne rencontre dans la couche sous-séreuse que des individus isolés. Grâce à cette action de la couche musculaire, le développement des tubercules dans la couche sous-séreuse est en retard sur celui des autres couches situées de l'autre côté de la couche musculaire.

Ce phénomène était encore plus prononcé dans les cas du deuxième groupe, auxquels nous allons passer à présent. Dans ce groupe, nous avons placé les cas dans lesquels existaient une péritonite tuberculeuse et des lésions tuberculeuses de l'intestin ayant débuté par la face péritonéale. Empis (11) a attiré l'attention sur ce fait que, dans la granulie, les membranes séreuses sont seules atteintes, tandis que les muqueuses restent épargnées par le processus. Du reste, on n'a pas encore pu saisir jusqu'à présent les raisons d'après lesquelles, dans la tuberculose miliaire, l'éruption des tubercules se fait primitivement sur les séreuses et n'attaque pas les muqueuses. Nous avons observé des cas où il existait une formation récente de tubercules miliaires dans le péritoine viscéral de l'intestin, et nous en avons vu d'autres où le processus était arrivé à l'état chronique, les tubercules ayant déjà commencé à se caséifier. Dans tous ces cas, dans les uns comme dans les autres, les tubercules étaient exclusivement localisés au tissu sous-séreux. Dans les cas chroniques, l'infiltration tuberculeuse avait déjà atteint la couche musculaire externe à fibres longitudinales, tandis que la couche musculaire interne à fibres circulaires n'était presque pas modifiée, et que la couche sous-muqueuse était tout à fait intacte, normale. La muqueuse ne présentait alors qu'un état catarrhal, mais elle ne contenait pas de tubercules, ni de bacilles. Ici encore la couche musculaire paraissait former un obstacle à la progression des bacilles, et séparait nettement la couche atteinte par le processus tuberculeux de celles qui étaient encore relativement

saines [1] (fig. 3). Il est évident que la limitation de la tuberculose miliaire à la seule couche sous-séreuse ne peut être expliquée, par la mort qui serait arrivée avant que le processus ait pu se propager et atteindre la sous-muqueuse : nous avons eu des cas chroniques où les tubercules étaient à l'état de dégénérescence caséeuse, et pourtant ils n'ont pas pu dépasser la couche musculaire.

Dans ce deuxième groupe, contenant les cas de lésions tuberculeuses de la couche sous-séreuse, les bacilles étaient en très petite quantité : je n'en trouvais quelquefois qu'un ou deux dans un tubercule, quelquefois je n'en découvrais pas du tout, et cette pauvreté en bacilles était aussi marquée dans les tubercules jeunes que dans les tubercules caséifiés. Je crois que c'est par cette pauvreté en bacilles des tubercules sous-séreux qu'on peut expliquer ce fait paradoxal, que l'obstacle opposé par la couche musculaire est suffisant pour limiter les lésions exclusivement à la couche sous-séreuse, tandis que dans les cas d'ulcérations tuberculeuses de la muqueuse et de la sous-muqueuse, où il existe une véritable pullulation des bacilles, cet obstacle n'est plus suffisant. Dans ce dernier cas, les bacilles pénètrent, bien qu'en petit nombre, en suivant la voie lymphatique, dans la couche sous-séreuse et y provoquent la formation de groupes de tubercules qui correspondent strictement aux localisations de l'ulcération de la muqueuse. En voyant à la surface séreuse des groupes limités de tubercules, on peut dire d'avance que la muqueuse présente une ulcération à leur niveau.

Nous avons encore eu 2 cas mixtes (VI et X) où, simultanément avec le développement du processus tuberculeux, ayant

1. Un cas (VIII) de ce groupe présentait une particularité assez intéressante. A l'autopsie, on a trouvé l'intestin rempli d'une masse sanguinolente qui se composait de matières fécales mêlées à du sang. La muqueuse tout le long de l'intestin était de couleur marc de café et infiltrée de sang. A l'examen microscopique, nous avons trouvé les villosités privées de leur couche épithéliale, en partie détruites, en partie nécrosées, se colorant mal avec le carmin. Par places la muqueuse était fortement infiltrée d'éléments lymphatiques. La sous-séreuse était considérablement épaissie et farcie de foyers caséeux entourés d'une masse considérable d'éléments lymphoïdes. Les bacilles étaient fort peu nombreux et se trouvaient dans les masses caséeuses. La couche musculaire externe était déjà par places traversée par l'infiltration de cellules; quant à la partie interne à fibres circulaires et à la sous-muqueuse, elles ne présentaient aucune modification de nature tuberculeuse. La figure qui accompagne le texte se rapporte à ce cas.

débuté par la muqueuse, existait une tuberculose miliaire de la sous-séreuse. La façon seule dont étaient distribués les tubercules dans la couche sous-séreuse indiquait suffisamment que leur formation était indépendante de la lésion de la couche muqueuse. Ici on ne retrouvait plus cette relation entre les ulcérations de la muqueuse et la localisation des tubercules de la sous-séreuse : ces derniers étaient disséminés sur toute la surface péritonéale de l'intestin ainsi que sur tout le péritoine. Dans ces deux faits, la couche musculaire séparait nettement les deux processus. En dedans de la couche musculaire, on pouvait voir des ulcérations de profondeur différente entourées d'un tissu infiltré de tubercules. Ces ulcérations étaient, dans l'observ. VI, très riches en bacilles, dans l'autre (X), elles en contenaient un très petit nombre, et dans ce dernier cas l'ulcération était très superficielle. En dehors de la couche musculaire, nous avons trouvé, dans le premier cas, des tubercules jeunes à cellules géantes avec un petit nombre de bacilles; dans le second cas, des tubercules anciens ayant subi la transformation fibreuse. Il est évident que dans ces deux cas nous avons eu affaire à une infection double de l'intestin. Les malades qui présentaient des lésions avancées du poumon avalaient constamment les crachats riches en bacilles, et ont infecté de cette façon leur intestin ; d'autre côté, il y a eu probablement pénétration des bacilles dans les vaisseaux pulmonaires, ce qui a donné lieu à une généralisation du processus et, par conséquent, à une péritonite tuberculeuse avec formation de tubercules dans la couche sous-séreuse de l'intestin.

Nous allons nous arrêter maintenant aux quelques particularités qu'on observe dans la formation des tubercules de l'intestin.

Une série de recherches a démontré que l'introduction des bacilles tuberculeux dans l'intestin d'un animal normal, provoque le développement des tubercules dans les couches muqueuse et sous-muqueuse de l'intestin. Ceci démontre déjà d'une façon décisive que les idées de Köster et de Gottsacker, à savoir que le développement des tubercules exige un terrain préalablement atteint d'inflammation, étaient peu fondées. Si Höning a obtenu des résultats négatifs en examinant les follicules des intestins tuberculeux, la raison en est peut-être qu'il a pris des

follicules simplement hypertrophiés pour des follicules tuberculeux.

Dobroklonsky a vu le stade initial du développement des tubercules, et a rencontré des bacilles siégeant encore dans la couche épithéliale chez les cobayes infectés. Comment les bacilles passent-ils à travers cette couche? Il m'est très fréquemment arrivé de voir des leucocytes ayant pénétré entre les cellules épithéliales de la couche épithéliale des villosités et des glandes de Liberkühn, et il était tout naturel de penser que les leucocytes doivent jouer un rôle important dans le transport des bacilles. Dans le cas que nous avons décrit plus haut, où nous avons vu le début du développement des bacilles dans une villosité, et dans la couche épithéliale (cette dernière s'est détachée pendant la préparation de la coupe et a été figurée à part : voy. fig. 2), on a pu voir plusieurs bacilles, dont quelques-uns étaient manifestement situés dans l'intérieur des leucocytes, qui ont pénétré entre les cellules épithéliales. Ces leucocytes siégaient quelquefois dans des vacuoles qui s'étaient formées au milieu des cellules épithéliales ou entre elles, peut-être par suite de la contraction du protoplasma sous l'action de l'alcool. Il est évident que la présence dans la couche épithéliale de leucocytes contenant des bacilles ne démontre pas encore que les leucocytes transportent les bacilles dans l'intérieur des tissus de l'intestin. Bien au contraire, il est même possible que dans notre cas les leucocytes transportaient les bacilles de la profondeur à la surface de la muqueuse. Mais, quoi qu'il en soit, ce mode de pénétration des bacilles est le plus vraisemblable.

Quant aux autres bacilles qu'on voyait dans la couche épithéliale, la coloration de la coupe ayant été imparfaite, nous n'avons pu préciser s'ils étaient contenus dans les leucocytes, s'ils étaient libres entre les cellules épithéliales, ou enfin dans ces cellules elles-mêmes. Dobroklonsky s'est prononcé pour la présence des bacilles dans l'intérieur des cellules épithéliales elles-mêmes, mais personnellement nous n'avons pas pu le constater une seule fois.

Très fréquemment, il m'est arrivé de voir les cellules épithéliales des glandes détachées les unes des autres, se trouver dans un tissu rempli de bacilles, mais pas une seule fois je n'ai pu constater la présence de bacilles dans leur intérieur. Un

autre fait que je n'ai pas vu non plus, c'est la participation de ces cellules à la formation des cellules épithélioïdes et des cellules géantes du tubercule (Baumgarten). Les modifications de l'épithélium glandulaire, en cas de développement des tubercules dans la couche glandulaire, m'ont paru tout à fait secondaires, passives. Ordinairement on observe deux espèces de modifications dans les glandes. En premier lieu, une grande quantité de cellules épithéliales se transforment en cellules caliciformes, comme cela a lieu dans tout catarrhe de n'importe quelle nature. Ce qu'on observe en second lieu, c'est la destruction des liens réciproques qui unissent les cellules entre elles : à la période initiale, les extrémités périphériques (les bases) des cellules s'écartent; ensuite les cellules se détachent complètement les unes des autres, et on ne trouve plus de disposition régulière ; les cellules forment des amas dans le tissu environnant. La forme de ces cellules est plus ou moins modifiée, mais les noyaux continuent à être bien visibles, et les cellules conservent leur propriété de se colorer par le bleu de méthylène. De cette façon, même dans les modifications aussi avancées que celles dont nous venons de parler, on peut encore distinguer ces cellules épithéliales, et voir qu'elles ne contiennent pas de bacilles, et ne présentent pas non plus de stade de transition accusant leur transformation en cellules épithélioïdes ou géantes à noyaux multiples.

Une fois que les bacilles ont traversé cette couche épithéliale, leur progression ultérieure, dans les parois de l'intestin, se fait principalement par les voies lymphatiques, mais non par la voie sanguine (car les bacilles qui pénètrent dans les vaisseaux sont ordinairement entraînés par le courant sanguin et se déposent dans le foie). Bien que mon attention fût constamment fixée sur l'état des vaisseaux, je n'ai que très rarement rencontré des bacilles dans l'endothélium vasculaire, et encore plus rarement à l'intérieur des vaisseaux, dans les leucocytes, quoique le tissu abondât en bacilles. Sous ce rapport, cette forme de tuberculose intestinale diffère beaucoup de la tuberculose d'autres organes (foie, muqueuse du voile du palais), où les vaisseaux jouent au contraire un rôle énorme dans le développement du processus tuberculeux. L'opinion accréditée, à savoir que la direction transversale des ulcérations tuberculeuses de l'intestin

dépend de la pénétration des bacilles par les artères mésentériques (Baumgarten, *l. c.*, p. 117) qui traversent transversalement les parois intestinales, ne me paraît pas tout à fait fondée. Dans ce qui précède, nous avons vu que la grande majorité des ulcérations tuberculeuses de l'intestin n'est probablement que le résultat de l'infection de la muqueuse par le contenu de l'intestin, tandis que dans l'infection par voie sanguine (tuberculose miliaire généralisée), le développement initial des tubercules se fait dans la sous-séreuse. Or, dans ce dernier cas, les tubercules ne s'ulcèrent habituellement pas. Il me paraît donc plus exact d'expliquer la disposition transversale de quelques ulcérations par ce fait que les bacilles se propagent facilement dans une direction transversale, le long du tissu adénoïde sous-muqueux qui entoure les troncs vasculaires.

Quant aux cellules géantes, elles se rencontraient généralement là où les bacilles étaient en petit nombre; dans les bords des ulcérations qui abondent en bacilles, elles étaient habituellement absentes. Ces cellules étaient surtout nombreuses dans les tubercules de la sous-séreuse qui sont pauvres en bacilles.

Les cellules géantes contenaient très souvent des bacilles. Il ne m'est pas arrivé de voir la destruction des bacilles dans les cellules géantes de l'intestin de l'homme : dans la lutte qui s'engage entre les bacilles de la tuberculose et les cellules de l'homme (Metchnikoff), les dernières sont plus faibles et sont vaincues par les premiers.

Les transformations caséeuses des tubercules se rencontraient assez souvent. Ces modifications survenaient aussi bien lorsque les bacilles étaient en grande quantité que lorsqu'ils étaient en petit nombre, et de cette sorte nous constations des tubercules caséeux (cas IX) dans lesquels nous ne pouvions trouver de bacilles ni dans la masse caséeuse, ni dans la zone embryonnaire périphérique. Il est donc évident que le nombre des bacilles n'est pas une condition capitale de la transformation caséeuse.

Si nous voulions maintenant résumer notre travail, nous arriverions aux conclusions principales suivantes :

1. Les tubercules de l'intestin, lorsque l'infection s'est faite par le contenu intestinal, débutent dans les couches muqueuse

et sous-muqueuse. C'est dans cette catégorie de cas qu'on trouve le plus souvent des ulcérations. Dans la tuberculose miliaire généralisée, le processus se localise dans le tissu conjonctif sous-séreux.

2. Dans le premier cas, la propagation du processus tuberculeux en profondeur, vers la couche sous-séreuse, est considérablement empêchée par la couche musculaire. Ce rôle de la couche musculaire est bien plus prononcé dans les faits de la deuxième catégorie, dans lesquels le processus tuberculeux a débuté dans la couche sous-séreuse. Cette différence s'explique par la pauvreté relative en bacilles des tubercules qui se développent primitivement dans la couche sous-séreuse.

3. Les leucocytes jouent un rôle considérable dans le passage des bacilles à travers la couche épithéliale.

4. Dans le développement des tubercules de l'intestin, les éléments épithéliaux, glandulaires, ne paraissent jouer aucun rôle : ils ne se modifient que secondairement.

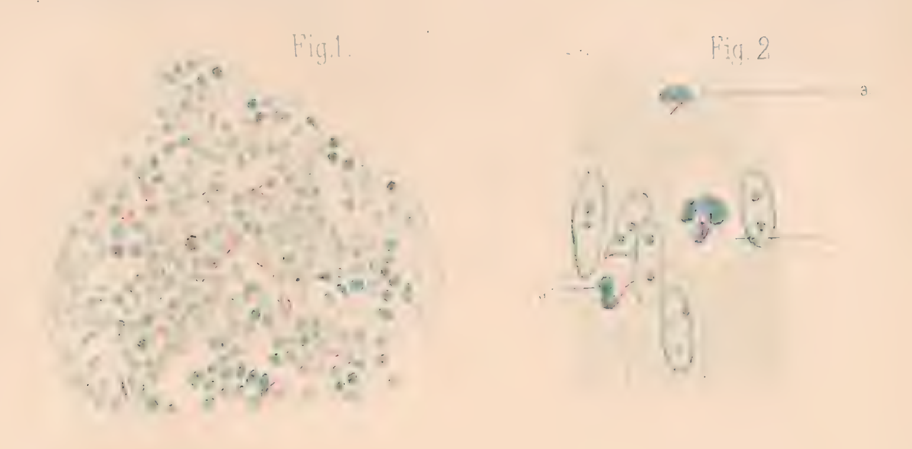
5. La propagation du processus tuberculeux à travers la paroi intestinale se fait de préférence par la voie lymphatique.

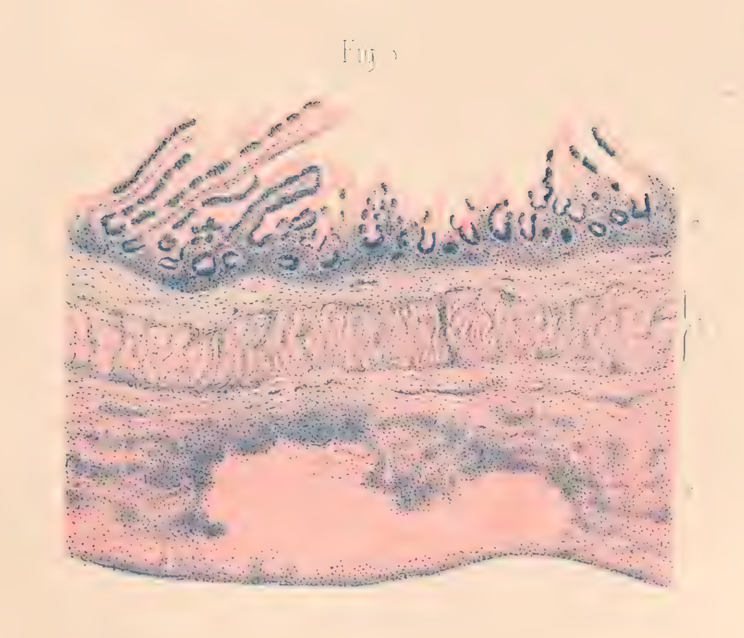
6. La transformation caséeuse des tubercules ne dépend pas exclusivement du nombre des bacilles, et peut se produire en présence d'une quantité minime de ces microorganismes.

Qu'il me soit permis, en terminant cet article, d'exprimer toute ma reconnaissance à M. le professeur Cornil pour ses indications, et pour l'extrême obligeance qu'il n'a cessé de me témoigner pendant tout le temps que j'ai travaillé à son laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

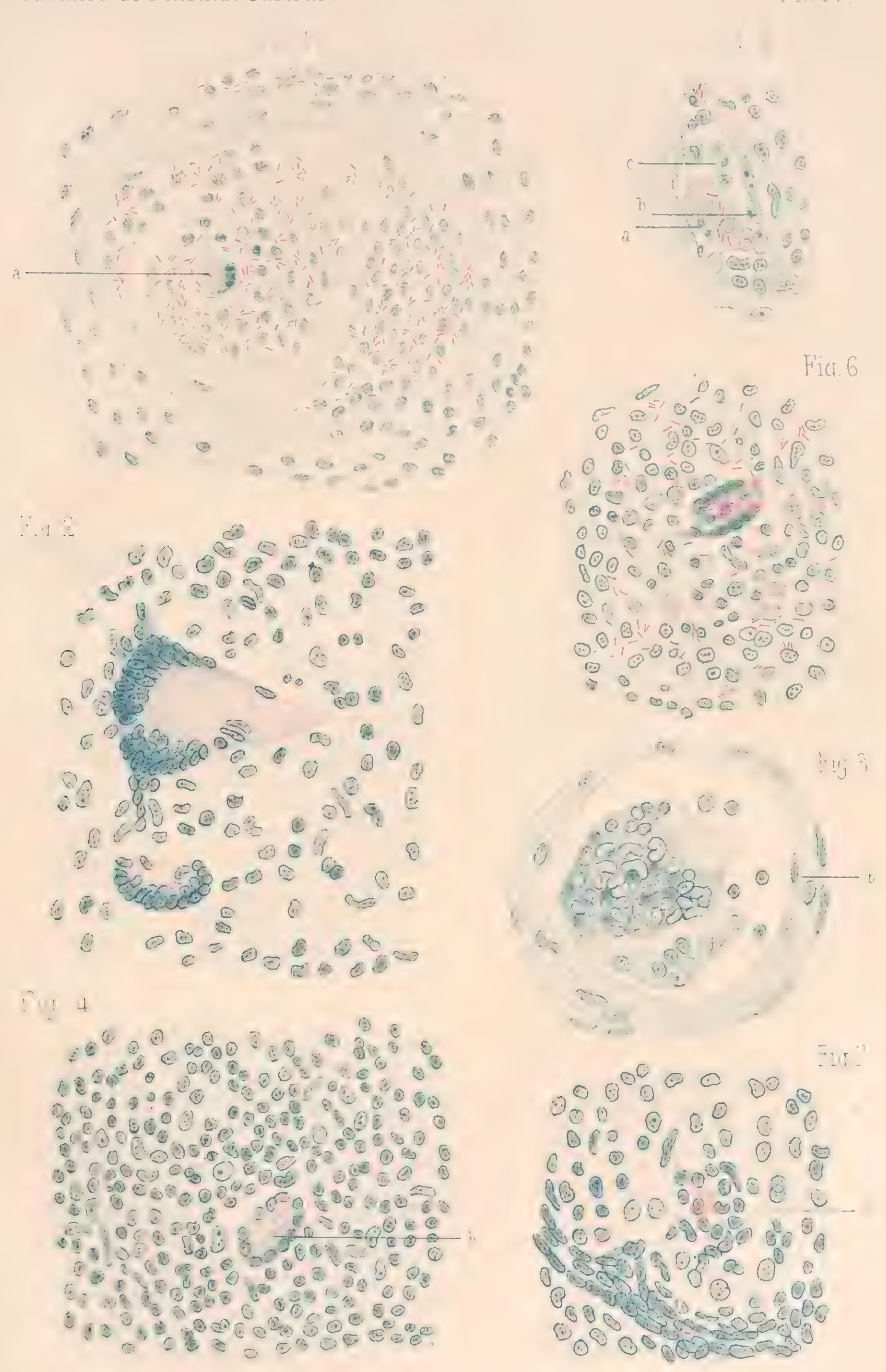
1. R. Koch. Die Aethiologie der Tuberculose. *Berlin. klin. Wochenschrift*, n. 15, 1882. *Mittheilungen aus d. kais. Gesundheitsamte*, Bd II, 1884.
2. Cornil et Babès. Note sur les bacilles de la tuberculose et sur leur topographie dans les tissus altérés par cette maladie. *Acad. de méd. de Paris*, 1er mai 1883. — Cornil, Hérard et Hanot. La pthisie pulmonaire. Paris, 1888, p. 120.
3. Wesener. Ueber das Vorkommen der Tuberkelbacillen in den





A. Karmanski ad nat. del et lith.

Imp. Lemercier & Cie Paris



A. Karmanski ad. nat. del. et lith. Imp. Lemercier & Cie Paris

Organen Tuberculöser. *Deutsch. Arch. f. klin. Medic.*, 1884, s. 583.
4. Baumgarten P. Ueber Tuberkel und Tuberkulose. Berlin, 1885, I Th., s. 112.
5. Wesener. Kritische und experiment. Beiträge zur Lehre von der Fütterungstuberculose. Freiburg i. B., 1885.
6. Honing. Ueber das Auftreten der Bacillen bei Darmtuberkulose. Inaug.-Dissert., Bonn, 1885.
7. Koster, *Virchow's Archiv*, Bd 48, s. 95.
8. Gottsacker. Zur Histogenese der tuberkulösen Darmgeschwüre. Inaug.-Dissert., Bonn, 1880.
9. J. Girode. Contribution à l'étude de l'intestin des tuberculeux. Thèse de Paris, 1888.
10. Dobroklonsky. Note sur le développement de la tuberculose après l'introduction dans l'organisme des bacilles tuberculeux par le tube digestif et le vagin. Congrès pour l'étude de la tuberculose. Premier fasc., Paris, 1888, p. 263.
11. Empis (G. S.). De la granulie. Paris, 1855, p. 96.

EXPLICATION DES GRAVURES

Fig. 1. Coupe d'une villosité intestinale contenant des bacilles de la tuberculose. Début de la formation d'un tubercule. Coloration de Ziehl. Obj. $\frac{1}{12}$, Hom. immers. oc. 2 Zeiss. Dessin à chambre claire, fait au niveau de la table du microscope.

Fig. 2. Couche épithéliale avec des bacilles. — *a*, leucocytes contenant des bacilles. Obj. $\frac{1}{12}$, Homog. immers. oc. 3 Zeiss. Dessin à la chambre claire, fait au niveau du pied du microscope.

Fig. 3. Coupe de la paroi de l'intestin grêle. Masses tuberculeuses caséeuses entourées des zones embryonnaires dans la couche sous-séreuse épaissie (*c*). Les altérations tuberculeuses ne dépassent pas la couche musculeuse (*b*). — *a*. Muqueuse altérée par une inflammation chronique avec destruction des villosités. Coloration : solution de Ziehl, bleu de méth., éosine. Obj. 1, ocul. 2 de Verick.

SUR LA FORMATION DES CELLULES GÉANTES

ET LEUR ROLE PHAGOCYTAIRE DANS LA TUBERCULOSE DES AMYGDALES ET DE L'ÉPIGLOTTE,

Par M. le Dr A. STCHASTNY, de Varsovie [1].

La question de l'origine et de la formation de cellules géantes dans la tuberculose n'est pas neuve, sans doute : Rokitansky, Virchow, Langhans, Chüppel, Charcot et plusieurs autres observateurs s'en sont occupés. Cependant certains côtés de cette question restent encore obscurs. Ainsi l'origine des cellules géantes et le but final de leur formation.

Tout récemment, M. Metchnikoff [2] a observé des phénomènes extrêmement intéressants, et ces observations mettent la question sur un terrain tout à fait nouveau. Elles démontrent que les cellules géantes, qui apparaissent avec une grande prédilection pendant la tuberculose, servent de défense à l'organisme en dévorant les bacilles de la tuberculose. C'est pourquoi M. Metchnikoff les baptisa du nom caractéristique de « *phagocytes*, protégeant l'organisme contre l'aggression des bacilles tuberculeux, qu'ils tuent ou transforment en masses jaunes ». Dans le cours de mes recherches sur les relations entre les bacilles de la tuberculose et les éléments cellulaires des organes tuberculeux chez les animaux inoculés, j'ai eu aussi l'occasion d'observer la formation des cellules géantes. Mes observations [3] m'amenèrent à des résultats qui, sur les points principaux, sont tout à fait identiques à ceux de M. Metchnikoff, savoir : « les cellules géantes des animaux sensibles à la tuberculose, comme par exemple du spermophile,

1. Travail du laboratoire d'anatomie pathologique de M. Cornil.

2. Virchow's Archiv., Bd. CXIII (Heft I), 1888. *Uber die phogocytäre Rolle der Tuberkelriesenzellen.*

3. Virchow's Archiv., Bd. CXV, 1889. *Uber Beziehungen der Tuberkelbacillen zu den Zellen.*

représentent des formations solides et actives, ne manifestant point de signes de nécrobiose et augmentant les moyens de résistance de l'organisme. »

Ainsi, d'un côté les observations de M. Metchnikoff, de l'autre les miennes, faites indépendamment et presque en même temps, démontrent que les leucocytes phagocytes jouent un rôle important dans la formation du tubercule et des cellules géantes.

Les observations de Stöhr [1] ont déjà démontré que les leucocytes, après être sortis du tissu adénoïde des amygdales et des cryptes, peuvent non seulement se trouver dans la cavité buccale, mais encore détruire sur une certaine étendue plusieurs couches d'épithélium. En outre, Flemming [2] a démontré que les néoformations des leucocytes, qui se produisent dans les glandes lymphatiques normales et dans d'autres organes lymphatiques normaux, sont basées sur la division cellulaire à type de la karyomitose; ces néoformations lymphatiques sont tout à fait identiques aux divisions cellulaires qui se produisent dans des tissus sains comme un phénomène de mitose physiologique.

Il reste donc à savoir si ces phénomènes de mitose se rencontrent aussi dans les transformations pathologiques des glandes lymphatiques, ou bien, si dans ce cas il existe un mode spécial de division cellulaire, comme le pense Arnold [3], par exemple, pour le cas d'hyperplasie aiguë des glandes lymphatiques.

Paulsen [4] a fait des observations histologiques sur les glandes lymphatiques (entre autres sur les amygdales), et il affirme que dans l'hyperplasie, la néoformation des leucocytes se fait d'après le mode de division des noyaux comme la décrit Flemming ; c'est-à-dire que dans ce cas il se forme des foyers de multiplication de leucocytes semblables à ceux qui apparaissent physiologiquement dans les glandes lymphatiques normales. Il serait donc extrêmement intéressant de savoir quel rôle ces leucocytes migrateurs jouent dans la tuberculose des amygdales chez l'homme ? Ne deviennent-ils pas, eux aussi, des phagocytes dans le sens que comprend M. Metchnikoff ? Ou bien, en émigrant sur la surface

1. Virchow's Archiv., Bd XCVII, 1884. *Uber Mandeln und Balgdrüsen.*

2. Archiv. f. mikr. Anat. Bd XXIV, 1884. *Die Zellvermehrung in den Lymphdrusen und verwandten Organen, und ihr Einfluss auf deren Bau.*

3. Virchow's Archiv., Bd XCV, 1884.

4. Archiv. f. mikr. Anat. Bd XXIV (3 Heft), 1884. *Zellvermehrung und ihre Begleitungserscheinungen in hyperplastichen Lymphdrusen und Tonsillen.*

de la cavité buccale et du gosier, et en dénudant une étendue plus ou moins considérable, ces leucocytes ouvrent-ils aux bacilles de la tuberculose une voie plus facile pour leur introduction dans l'organisme?

Cette question de l'origine, du développement et de la propagation des formations tuberculeuses dans l'organisme de l'homme et des animaux, a reçu plusieurs solutions contradictoires et opposées. C'est pourquoi j'ai tenté d'étudier les changements anatomo-pathologiques qui se produisent pendant la tuberculose dans les amygdales et la région sus-glottique chez l'homme, et le rôle des leucocytes-phagocytes dans les tubercules des organes lymphatiques et de la muqueuse de cette région.

Pour ces observations, je me suis servi des amygdales prises sur cinq cadavres dont l'autopsie a été faite par M. le professeur Cornil, à l'obligeance duquel je les dois. Ces organes, immédiatement après l'autopsie, avaient été mis dans l'alcool, d'abord à 70°, ensuite à 90°.

Les coupes ont été faites aussi nombreuses que possible et dans les différentes parties des deux organes, au moyen du microtome de Jung. L'examen microscopique a été fait sous le microscope de Leitz, avec les oculaires 0,1,3, à l'immersion de 1/12, et bien souvent contrôlé à l'immersion de Zeiss à 1/12-1/18. Les coupes sont colorées sur les bacilles selon la méthode Ziehl.

Toutes les amygdales étaient prises sur les cadavres de personnes atteintes de tuberculose chronique des poumons avec ulcération des intestins; dans deux cas il y avait altération de la muqueuse de la région sus-glottique, dans sa partie inférieure et sur le bord libre; cette muqueuse était gonflée, rugueuse, et d'une coloration rougeâtre.

A l'examen macroscopique, les amygdales paraissaient plus ou moins hypertrophiées; dans deux cas elles atteignaient le volume d'une grosse prune; leur surface était irrégulière, noduleuse, et sur l'une d'elles on voyait une ulcération assez profonde, irrégulière, pénétrant dans le parenchyme de l'amygdale où elle formait une cavité remplie d'une matière caséeuse; sur les coupes, les amygdales paraissaient être tantôt blanc-rougeâtres, ramollies, laissant suinter à la compression un liquide trouble; tantôt blanc-jaunâtres, dures et sèches.

A l'examen microscopique, les amygdales présentaient des

aspects de lésions bien différents les uns des autres. Ainsi, dans certains cas, les tubercules de différentes grosseurs et à différents degrés de développement se trouvaient à la périphérie, et dans la partie centrale de l'amygdale ; ils renfermaient peu de bacilles de la tuberculose et beaucoup de cellules géantes. Dans d'autres, les foyers tuberculeux se trouvaient principalement à la périphérie, dans les sinus lymphatiques des bords (*Umhüllungsraum* de Frey, *Lymphsinus* de Hiss), et renfermaient aussi peu de bacilles. Dans d'autres encore, les foyers tuberculeux, renfermant beaucoup de bacilles dans les éléments cellulaires, ainsi que dans les cellules géantes elles-mêmes, étaient très développés dans toutes les parties des amygdales. A cette dernière catégorie se rapportaient deux cas, et dans l'un des deux, les amygdales se trouvaient fortement hypertrophiées et ulcérées.

Dans ce dernier cas, les préparations des parties périphériques de l'amygdale montraient des ilots tuberculeux, de grands foyers ou des bandes confluentes, situées immédiatement au-dessous du revêtement épithélial de l'amygdale, au siège même des sinus lymphatiques, ou dans les follicules profonds. Au niveau des follicules profonds, les tubercules communiquaient aussi entre eux au moyen de bandes plus ou moins larges ou de ponts, et avec les tubercules situés à la périphérie, dans les sinus lymphatiques. Lorsque les tubercules, en forme de petits nodules, se trouvaient au-dessous de la capsule de l'amygdale, les follicules amygdaliens ne paraissaient pas altérés ; mais là où les tubercules étaient très développés, dans le sinus lymphatique, les follicules étaient comprimés et indistincts. A la périphérie de ces tubercules, qui occupaient parfois un champ entier ou un demi-champ de microscope, étaient disposées des cellules géantes de diverses formes et de différentes dimensions ; tantôt elles renfermaient tantôt non les bacilles de la tuberculose (fig. 2, pl. IV).

Les coupes de la surface de l'amygdale, d'apparence ulcérée, montrent qu'il s'agit simplement d'une dilatation des cryptes remplies d'une substance caséeuse ; sur les parois de ces cryptes se trouvent des tubercules à l'état de dégénérescence caséeuse et de désagrégation.

Les préparations des deux autres séries d'amygdales, étudiées au point de vue du rapport des tubercules avec les tissus voisins, montrent parfois, sur la même coupe, tantôt des agglomérations

très serrées des éléments formant le tubercule, tantôt des éléments cellulaires plus distants les uns des autres. Parfois le tubercule se limite brusquement par une couche mince, soit de tissu connectif filamenteux, soit de tissu granuleux qui l'entoure comme d'une capsule; tantôt le tubercule, ayant la forme d'un cercle régulier, s'applique contre le tissu lymphatique.

Dans d'autres cas, la formation tuberculeuse occupe le tissu conjonctif situé entre les follicules lymphatiques normaux; les tubercules ont alors l'aspect de bandes plus ou moins confluentes, et passent graduellement dans le tissu environnant, c'est-à-dire qu'à la périphérie du tubercule, les éléments cellulaires ne sont pas serrés les uns contre les autres et sont séparés par de minces filaments de tissu réticulaire dont les cellules endothéliales sont souvent à l'état de prolifération.

Ainsi, sous ces deux formes de développement, la forme de nodules miliaires et l'infiltration, les formations tuberculeuses des amygdales se rencontrent tantôt dans les parties périphériques de l'organe, immédiatement au-dessous de l'épithélium, dans les espaces lymphatiques, tantôt dans les follicules. Nous remarquons aussi que ces formations sont plus développées autour des vaisseaux, qui présentent souvent une altération des cellules endothéliales ; ces éléments prennent évidemment part à la formation du tubercule.

En examinant les préparations des coupes longitudinales et transversales des capillaires ou des petites veines remplies de corpuscules blancs du sang (leucocytes), et sur lesquels sont appliqués de place en place des foyers tuberculeux, on voit que les éléments de ces derniers ne diffèrent, ni dans leur forme, ni par leur volume, des corpuscules blancs des capillaires dilatés et des petites veines, c'est-à-dire que les éléments cellulaires des tubercules ressemblent, les uns aux petits leucocytes ayant des noyaux irréguliers, d'autres aux leucocytes uninucléaires de la même grosseur renfermant un noyau simple, d'autres encore aux leucocytes protoplasmatiques plus gros avec un noyau rond, ovale, ou en forme de fer à cheval, riche en suc nucléaire; c'est pourquoi il est moins visible que le noyau des leucocytes polynucléaires ou des petits lymphocytes (Metchnikoff, *l. c.* p. 90).

On rencontre aussi dans les capillaires dilatés et dans les veines, en même temps que ces corpuscules blancs, des cellules

plus grosses, fusiformes, qui s'appliquent contre les parois des capillaires et ressemblent à l'endothélium ; parfois ces cellules font saillie à l'intérieur des vaisseaux ; d'autres fois elles se détachent des parois des capillaires et se confondent avec les corpuscules blancs du sang (leucocytes). Comme le réseau des capillaires est très serré et leur direction très irrégulière dans le tissu lymphatique des amygdales, il est fort difficile de suivre sur une grande longueur ces cellules qui ressemblent aux cellules endothéliales et aux gros globules blancs du sang, parce que sur la coupe on n'obtient que de petits segments de capillaires.

Cependant, même sur ces préparations, on peut très bien constater que dans les capillaires, en outre de ces cellules, se trouvent des cellules endothéliales à peine visibles, des cellules fusiformes, et des cellules à plusieurs noyaux et présentant les phénomènes de l'hyperplasie. Ces cellules sont disposées parallèlement, comme cela a lieu dans l'endothélium des parois des vaisseaux. Comme on rencontre les mêmes cellules endothéliales en voie de prolifération aussi bien dans les capillaires que dans la périphérie du tubercule, et que ces cellules ressemblent par leur forme et leur volume aux gros corpuscules blancs du sang, et ne ressemblent aux cellules endothéliales que par leurs transformations successives, on peut donc admettre avec Metchnikoff que les cellules endothéliales des capillaires ne jouent pas un rôle direct dans la formation du tubercule ; cependant il est fort probable qu'elles y prennent part indirectement, en devenant mobiles et augmentant le nombre des leucocytes uninucléaires (*l. c.* p. 90).

En ce qui concerne la disposition topographique des éléments constituants du tubercule et leurs rapports mutuels, l'examen de coupes nombreuses démontre que sur certaines préparations le centre du tubercule est occupé principalement par de gros éléments cellulaires riches en protoplasma, par des macrophages (Metchnikoff) contenant des bacilles. Autour de ce centre se trouvent de petites cellules amiboïdes possédant un protoplasma pâle, et ayant un noyau fortement coloré qui est le plus souvent irrégulier ou segmenté (lymphocytes). Quelquefois on trouve des amas de cellules polynucléaires (microphages) renfermant des bacilles et des lymphocytes à noyau simple.

Sur une même préparation, ou sur une série de préparations

prises dans le même morceau de l'amygdale, on rencontre en même temps des gros foyers de formations cellulaires ayant le caractère du tissu granuleux en train de se former autour des vaisseaux dilatés. Les éléments cellulaires, de diverses formes et de différents volumes, sont tantôt ronds et gros comme les corpuscules blancs, tantôt ovales et fusiformes et séparés par une substance connective. En voyant cette dernière forme des éléments cellulaires, et si l'on ne rencontrait pas, bien que rarement, un ou deux bacilles de la tuberculose, et des cellules géantes très développées, on pourrait penser qu'ils n'ont rien de commun, dans leur origine, avec la forme des tubercules que nous avons décrits plus haut, et qu'ils représentent simplement la néoformation du tissu granuleux. Toutes ces considérations me conduisent à conclure que la formation du tubercule dans les amygdales, aussi bien que dans les autres organes, commence par une apparition de foyers de néoformations inflammatoires, composées d'éléments granuleux qui se transforment plus tard en cellules épithélioïdes et en cellules géantes.

Il résulte de ce qui précède que le tubercule des amygdales est composé principalement de leucocytes (macrophages, microphages et lymphocytes), lesquels d'une part passent au travers des parois des vaisseaux sanguins, et, épanchés dans le tissu voisin, se multiplient et donnent une reproduction de cellules; d'autre part, entrant en contact avec les éléments protoplasmatiques du tissu environnant, avec les cellules lymphoïdes et endothéliales du tissu réticulé, excitent les propriétés vitales de ces cellules, d'où l'agrandissement du foyer tuberculeux. La faculté qu'ont les leucocytes de s'agrandir par division indirecte (de mitose) est démontrée par des recherches indiscutables non seulement dans les conditions physiologiques (Peremechko, Lawdowsky, Flemming, Drews, Mobius, etc.), mais aussi dans les conditions pathologiques (Arnold, Paulsen, Cornil, Metchnikoff). Malgré cela, si on prend en considération que Ehrlich a trouvé souvent des leucocytes uninucléaires dans le sang des tuberculeux, et que ces leucocytes (ou *Blutmagrophagen*, Metchnikoff) ne diffèrent nullement des cellules épithélioïdes du tubercule, il ne reste aucun doute que ce dernier doit son origine à la diapédèse et appartient au tissu granuleux inflammatoire. En ce qui concerne l'origine des cellules granuleuses, Ziegler

dit : « Elles dérivent sûrement pour la plupart du sang ; il est pourtant possible qu'elles produisent aussi des cellules jeunes, analogues aux cellules en voie de prolifération des tissus et douées aussi de la faculté migratrice. »

En résumé, j'arrive à cette conclusion que : 1° les leucocytes jouent un rôle prépondérant dans la formation de tubercules dans les amygdales; 2° que les cellules endothéliales des capillaires et les cellules fixes n'y prennent qu'une part secondaire, en augmentant par elles-mêmes le nombre des cellules uninucléaires (cellules épithélioïdes) dans le tubercule ; 3° que ce dernier, d'accord avec MM. Virchow et Arnold, est construit d'après le type du tissu granuleux, des *granulomes* d'origine inflammatoire.

Il me reste encore à parler de la manière dont se développent les cellules géantes, et des phénomènes de la phagocytose dans les amygdales que j'ai observées. Mais ces phénomènes se retrouvant dans mes deux cas de tuberculose de la région sus-glottique, et la phagocytose y étant même plus manifeste, je préfère traiter ces questions en parlant de la tuberculose de la région sus-glottique.

La tuberculose de la région sus-glottique.

J'ai déjà dit plus haut que j'avais examiné dans deux cas la muqueuse de la région sus-glottique. Sur les coupes microscopiques faites à travers l'épaisseur et perpendiculaires à la surface de la muqueuse de l'épiglotte, dans des points où la muqueuse n'est nullement ulcérée, mais seulement tuméfiée irrégulièrement sans présenter de saillies ou de granulations visibles à l'œil nu, on trouve dans les couches de l'épithélium stratifié une certaine quantité de bacilles situés dans des cellules migratrices dont quelques-unes possèdent plusieurs noyaux et sont assez volumineuses. Probablement ces cellules siègent dans les voies lymphatiques décrites par Ranvier et situées entre les cellules épithéliales. D'autres bacilles sont libres et situés également entre les cellules épithéliales [1]. Si l'on examine

1. Voyez *la Phtisie pulmonaire*, par P. Hérard et V. Cornil, Paris, 1888, p. 127.

la muqueuse même, depuis la partie superficielle du chorion muqueux jusqu'au tissu sous-muqueux et à la couche des glandes acineuses. on constate qu'elle est irrégulièrement épaissie et que, par places, elle est tellement envahie par les éléments cellulaires macrophages et microphages contenant un ou plusieurs bacilles, que la structure réticulaire de cette muqueuse est complètement indistincte sur une étendue plus ou moins grande; tout le champ du microscope est rempli de bacilles accumulés et de leucocytes: ces derniers, pour la plupart sous la forme de microphages. qui, en s'unissant, englobent des bacilles et soutiennent une lutte acharnée entre eux. Quelques-uns des leucocytes sont tellement bourrés de bacilles qu'ils apparaissent comme des petites masses bleu foncé, au milieu desquelles je ne distinguais pas ou ne distinguais qu'avec peine les noyaux irréguliers. Et pendant que certains leucocytes dévoraient les bacilles avec une pareille avidité, d'autres, au contraire, n'en contenaient pas du tout.

Là où l'envahissement par les macrophages et microphages n'est pas aussi considérable, on rencontre des tubercules de diverses formes et de différentes dimensions: entre ces tubercules et dans plusieurs directions passent des petites veines et des capillaires plus ou moins dilatés, fortement remplis de leucocytes renfermant des bacilles et semblables à ceux qu'on rencontre dans les tubercules adjacents (fig. 7).

Dans un de ces vaisseaux (fig. 1), fortement bourré de leucocytes, se trouve une cellule géante de dimension moyenne ayant à sa périphérie des noyaux, tandis que son centre est occupé par une masse caséeuse renfermant un bacille. La paroi *b* de ce vaisseau est très distincte et sa membrane interne présente des cellules endothéliales; de nombreux bacilles *c* existent au milieu du thrombus intra-vasculaire dans les globules blancs ou entre eux.

Dans un second vaisseau, qui est moins rempli de leucocytes contenant des bacilles, on voit une cellule géante en voie de formation par l'union de leucocytes qui englobent des bacilles (fig. 5). Sur la même préparation microscopique, on peut souvent voir que certains vaisseaux contiennent beaucoup de leucocytes et de bacilles, d'autres en renferment très peu, d'autres encore ne renferment que des leucocytes sans bacilles.

Mais sur tous les vaisseaux on constate les changements de l'endothélium que nous avons décrits pour les amygdales, c'est-à-dire les différents degrés de son gonflement. Ce gonflement s'étend, soit sur un petit segment du vaisseau, soit sur toute sa partie visible sous le microscope. Sur certains capillaires, les cellules endothéliales tuméfiées montrent aussi parfois les phénomènes de la prolifération. Elles possèdent souvent deux ou trois noyaux ; les éléments granuleux renfermant de gros noyaux ovales se confondent avec les globules blancs du sang et rétrécissent la lumière du vaisseau, parfois même ils la comblent totalement; ainsi l'amas des cellules endothéliales proliférées et les globules blancs ont l'aspect de thrombus épais.

Dans le tissu sous-muqueux, l'infiltration tuberculeuse est moins manifeste ; elle apparaît sous forme de nodules ronds sur les coupes perpendiculaires des vaisseaux, et sous forme de larges bandes sur les coupes longitudinales ; les parois de ces vaisseaux sont manifestement envahies par les globules blancs qui pénètrent l'endothélium gonflé. Quant à la quantité du contenu de ces vaisseaux, elle est très variable et dépend des troubles de la circulation qui surviennent à mesure que l'endothélium gonfle ; ce gonflement fait naître des thrombus. Ainsi certains vaisseaux, les capillaires, les veines et les petites artères sont très dilatées et fortement thrombosées par les globules blancs du sang ; d'autres le sont moins ; d'autres encore sont anémiés ou même complètement vides, et ne contiennent aucun élément figuré. Les grandes veines dilatées et thrombosées, où se trouvent principalement des globules blancs du sang (leucocytes) très accumulés et riches en bacilles, se présentent, quand on les examine sur les coupes perpendiculaires, sous forme de tubercules qui occupent tout le champ du microscope ; ces tubercules paraissent être nettement limités par une enveloppe, et sont surtout constitués par des microphages et des lymphocytes. A côté de ces veines et des capillaires thrombosés, on rencontre dans le tissu connectif, qui présente les phénomènes de la prolifération des éléments cellulaires, des nodules de diverses formes et de différentes dimensions, ainsi que de nombreuses cellules géantes ; celles-ci renferment ou ne renferment pas de bacilles, suivant les cas. La figure 4 représente un de ces tubercules qui est constitué par un groupe de leucocytes

contenant des bacilles et mélangés à ceux qui en sont dépourvus ; ces leucocytes sont serrés ou non, et le tissu connectif qui entoure le tubercule lui forme une sorte de capsule et le sépare plus ou moins du tissu sain ; dans le centre de ce tubercule se trouve la cellule géante caractéristique *b* remplie de bacilles ; les fig. 5 et 6 représentent la formation d'un jeune tubercule et d'une cellule géante par l'union des macrophages englobant des bacilles.

Passant maintenant à la description de la formation des cellules géantes, qui se rencontrent particulièrement dans des tubercules renfermant peu de bacilles, nous remarquons que, même à un faible grossissement, ces cellules présentent les formes les plus variables : les unes sont plus ou moins rondes, d'autres ovales, d'autres encore en forme de croissants, etc.; leurs dimensions sont aussi des plus variables. Les petites renferment trois ou quatre noyaux, tandis que les gros amas protoplasmatiques en renferment vingt, trente et plus (cela se rapporte surtout aux cellules géantes des amygdales que je prends également ici en considération); les noyaux sont tantôt bleu pâle, tantôt bleu foncé ; les uns plus grands, les autres plus petits ; ils sont ronds, longs ou anguleux. Dans certaines cellules, les noyaux sont également distribués dans toute la masse ; dans d'autres, ils se rencontrent soit d'un côté, soit de l'autre; dans d'autres encore, ils se trouvent plus ou moins sur le bord. Bien souvent, à l'intérieur de ces cellules géantes, on rencontre en différents points, soit à la périphérie, soit entre les noyaux, soit dans le centre du protoplasma finement granuleux, des bacilles de la tuberculose, isolés, ou groupés, ou en masses. Il est à remarquer que les cellules géantes bourrées de bacilles n'en paraissent pas affectées, et se colorent tout à fait normalement On peut dire en général que la destruction des cellules géantes par les bacilles se voit bien rarement : le détritus caséeux qui se trouve dans le centre de la cellule géante ou à sa périphérie se rencontrait surtout dans les amygdales. Quant aux bacilles mêmes qui se trouvent dans les cellules géantes, ils paraissaient généralement ne pas être atteints et gardaient leur coloration normale. Cependant il m'est arrivé de rencontrer des cellules géantes dans lesquelles, après la coloration avec la fuchsine phéniquée, à côté des bacilles normalement colorés en rouge vif, s'en trou-

vaient de roses pâle, d'autres violets, d'autres encore bleu pâle ou bleu foncé. Je ne veux pas discuter ici les différentes théories sur l'origine et le développement des cellules géantes, je dirai seulement que dans plusieurs de mes observations, je n'ai jamais pu constater la formation des cellules géantes par le bourgeonnement karyomitosique, comme cela se fait dans la turberculose du foie et de la rate des spermophiles. Dans la muqueuse de la région sus-glottique et des amygdales, cette formation se fait par l'union de deux ou plusieurs cellules épithélioïdes sans changement notable des noyaux. Les macrophages amiboïdes se fusionnent et forment des masses plus ou moins grandes (fig. 7, 6, 5, 4); leurs contours restent encore faiblement visibles, puis s'effacent, et il se forme un tout entier renfermant plusieurs noyaux. Après qu'une cellule géante s'est ainsi formée, surviennent d'autres cellules isolées pour la grossir (fig. 3). De cette même façon j'explique la formation des cellules géantes dans les capillaires et les vaisseaux thrombosés (fig. 3 et 5). M. le professeur Cornil [1] a avancé, il y a déjà longtemps, l'opinion suivante : « Les cellules géantes se développent toujours dans l'intérieur des vaisseaux lorsque la circulation y a été arrêtée, et que les cellules lymphatiques ou endothéliales, accumulées dans la lumière du vaisseau, continuent à vivre, à se nourrir et à grossir aux dépens de la fibrine et des globules rouges qui se trouvent en contact avec elles. » D'après M. Cornil, la cellule géante représente le contenu d'un petit vaisseau oblitéré dont la paroi a été détruite.

Ainsi donc, mes observations confirment une fois encore l'ancienne théorie sur l'origine des cellules géantes par la fusion des éléments cellulaires (Langhans, Lange, Schüppel, Cornil, Charcot, Gambault, Metchnikoff, Yersin [2] et d'autres). Mais je ne veux pas dire par là que ce soit la seule explication possible de l'origine des cellules géantes. Il est bien probable que certaines cellules géantes que j'ai trouvées dans les amygdales (fig. 2), pouvaient naître par prolifération des cellules endothéliales qui se trouvaient dans les espaces lymphatiques et dans les fentes ; d'autres pourraient provenir des cellules du tissu

1. Des altérations anatomiques des ganglions lymphatiques. Adénite tuberculeuse. *Journ. de l'anatomie normale et pathologique,* 1878, page 30.

2. Etude sur le développement du tubercule expérimental, ces *Annales*, t. II, p. 245.

connectif ; mais quant à des données positives à l'appui de cette origine des cellules géantes, je n'en ai pas trouvé.

Résumant mes observations sur les rapports des phagocytes et des cellules géantes d'une part, et les bacilles et la tuberculose d'autre part, je conclus qu'il existe entre eux une lutte qui se termine au détriment des phagocytes, parce que ces derniers appartiennent à l'organisme humain qui est très attaquable par les bacilles de la tuberculose. Ces bacilles, après avoir lutté contre une résistance plus ou moins longue de l'organisme, finissent par le vaincre et le réduire à la déchéance. Cependant il n'est pas douteux que les phagocytes, parmi lesquels il faut compter aussi les cellules géantes, sont encore capables, même dans un organisme affaibli, de lutter contre les bacilles dont ils sont entourés et de faire preuve d'une activité assez énergique. Mes observations montrent que les phagocytes (macrophages et microphages) et les cellules géantes résistent et ne se détruisent pas malgré l'assaut constant des bacilles ; ils sont même capables de s'en emparer et de les dévorer. L'englobement des bacilles de la tuberculose par les phagocytes et les cellules géantes peut, selon moi, être tout à fait rangé dans la catégorie de la phagocytose de M. Metchnikoff.

A l'appui de cette opinion je présente ce fait que les phagocytes s'emparent, avant leur sortie des vaisseaux et dans le sang même, des bacilles de la tuberculose et essayent de les détruire ; et après leur sortie des vaisseaux, les phagocytes continuent leur fonction destructive sur les bacilles dans les formations tuberculeuses (les tubercules), où ils les englobent encore et essayent évidemment d'empêcher leur développement et leur progression.

Je me fais un devoir d'exprimer en terminant ma profonde reconnaissance à M. le professeur Cornil, pour avoir mis à ma disposition son laboraroire et pour la part qu'il a prise à mon travail.

SUR

LA TRANSMISSION DE LA RAGE PAR VOIE NERVEUSE

PAR MM. A. DI VESTEA ET G. ZAGARI.

(Laboratoire de la clinique Cantani, à Naples.)

Dans un travail analysé dans ces *Annales* (*Voy.* t. Ier, p. 492), nous avons publié, entre autres résultats, une série d'observations et d'expériences au sujet de l'ancienne hypothèse de la transmission de la rage le long des nerfs, par lesquelles nous voulions démontrer :

1° Que cette hypothèse est aussi bien d'accord avec l'expérience que celle de la transmission par voie sanguine, puisqu'on peut infecter les animaux, comme nous l'avons prouvé les premiers, en injectant quelques gouttes de virus dans l'épaisseur d'un nerf périphérique ;

2° Que la rage ainsi produite varie dans sa forme clinique avec le nerf qui a été inoculé, et que, de même, la marche progressive du virus le long de l'axe cérébro-spinal est déterminée par les rapports anatomiques du nerf inoculé avec cet axe ;

3° Que, cliniquement, chez des individus atteints de la rage, nous avons remarqué un rapport entre le siège des morsures et le développement des symptômes morbides ; car nous avons vu les symptômes de la rage dite furieuse se présenter d'ordinaire chez les mordus à la tète et aux membres supérieurs, tandis que, chez les mordus aux membres inférieurs, ce sont les paralysies de ces membres qui se sont présentées tout d'abord.

La clinique vient donc à l'appui de la théorie nerveuse de la rage, tout aussi bien que la simple expérience de l'infection par les nerfs, et nous nous sommes crus suffisamment autorisés à admettre, du moins jusqu'à preuve contraire, que, *sûrement, l'absorption du virus a eu lieu par voie nerveuse dans tous les cas de rage humaine où l'on peut saisir un rapport entre l'évolution des phénomènes morbides et le siège de la morsure.*

Depuis, ces *Annales* ont publié plusieurs autres travaux qui,

traitant en particulier quelqu'un des points de la thèse développée par nous, confirment, en général, l'exactitude de nos observations, ou apportent de nouveaux faits à l'appui de nos vues.

D'abord M. Bardach [1] démontre la possibilité de donner la rage aux chiens en injectant le virus, non pas dans l'épaisseur des nerfs, comme nous avons l'habitude de le faire, mais seulement sous le névrilème. Outre cela, il fait remarquer combien, chez ceux qui sont morts enragés, il est facile de suivre, au moyen de l'inoculation de la substance des nerfs, le chemin parcouru par le virus pour arriver de la blessure aux centres nerveux. Ce dernier résultat a été constaté aussi par Roux [2], qui, d'ailleurs, en a ramené la valeur dans de plus justes limites. En même temps, M. Roux fait remarquer que l'infection de l'axe cérébro-spinal chez les lapins trépanés a lieu par étapes successives, et il démontre, comme nous, la présence du virus dans le bulbe avant l'apparition des paralysies, à cette époque de la période de l'incubation qu'il appelle *période de culture latente*.

Mais en acceptant la chose, nous nous demandons s'il est possible d'accepter aussi le mot. Il est vrai qu'à cette période les paralysies, par lesquelles nous marquons habituellement le terme de l'incubation, font défaut; mais, avec l'arrivée du virus au bulbe, nous constatons une augmentation de la température animale et une foule d'autres phénomènes relevant de l'excitation des centres nerveux, ce qui autorise à croire que la paralysie, chez les animaux trépanés, ne marque réellement qu'une *deuxième période* dans le progrès du mal. C'est bien aussi dans ce sens que parlent quelques observations de M. Hogyes [3] et le travail de M. Ferré [4], qui n'hésite pas à dire, comme conclusion de ses belles observations sur les troubles des mouvements respiratoires et cardiaques, que la rage des rues ne diffère pas, au point de vue pathogénique, de la rage paralytique du lapin

1. *Nouvelles recherches sur la rage*, t. II, n° 1.

2. *Notes de laboratoire sur la présence du virus rabique dans les nerfs*, t. II, n° 1, et t. III, n° 2.

3. *Le virus rabique des chiens des rues dans ses passages de lapin à lapin*, t. II, n° 3.

4. *Contribution à l'étude séméiologique et pathogénique de la rage*, t. II, n° 4.

trépané, *puisque l'une et l'autre débutent par des accidents bulbaires.*

Ce qui donne encore une grande valeur à notre thèse, c'est un autre travail très important de MM. Roux et Nocard [1], au sujet de l'immunité conférée aux ruminants par l'inoculation du virus dans les veines, et où l'on voit que l'on peut impunément introduire une forte quantité de virus dans le sang de ces gros animaux, qui cependant fournissent un si grand contingent à la rage après morsure. Comment une morsure pourrait-elle donner si facilement la rage à ces animaux, si elle avait la valeur d'une inoculation du virus dans le sang? Nous savons, en effet, qu'il n'y a de culture du virus rabique ni dans le sang ni dans les glandes lymphatiques, comme l'a démontré tout récemment aussi M. Helman [2].

Enfin, rappelons, bien que le fait ne touche que de loin notre sujet, que M. Helman [3], en cultivant chez le lapin le virus des rues, est arrivé par sélection à lui conserver la propriété de reproduire toujours la forme furieuse de la rage. Ce résultat est-il absolument indépendant du mode d'inoculation? Ce virus continuerait-il à donner la forme furieuse s'il était injecté dans le nerf sciatique du lapin?

M. Helman ne vise aucunement dans son travail les observations dont nous parlions tout à l'heure, d'après lesquelles on trouve toujours chez les lapins trépanés des symptômes furieux avant les paralysies, et qui font ressortir l'influence directrice du siège de l'inoculation sur la marche du virus vers les centres nerveux. En revanche, le même auteur, dans son dernier mémoire, après une analyse approfondie de la valeur de l'inoculation sous-cutanée en rapport avec la structure anatomique de la peau, parvient à des conséquences très importantes, qui sont au contraire favorables à la transmission du virus par voie nerveuse.

Après cet aperçu sommaire de l'état de la question de la théorie nerveuse de la rage, dont nous avons les premiers

1. *Expériences sur la vaccination des ruminants contre la rage par injections intraveineuses de virus rabique,* t. II, n° 7.

2. *Action du virus rabique introduit soit dans le tissu cellulaire sous-cutané, soit dans les autres tissus,* t. III, n° 1.

3. *Étude sur les formes furieuse et paralytique de la rage chez les lapins,* t. II, n° 5.

abordé l'étude au point de vue expérimental, nous allons donner le résumé [1] de nouvelles recherches que nous avons faites sur le même sujet, dans le but d'apporter notre petite pierre à l'édifice de la pathologie moderne de la rage, élevé par le génie de M. Pasteur.

I

Avant tout, nous avons voulu multiplier les observations touchant la nouvelle méthode d'inoculation, et nous n'avons pas lieu de revenir sur notre affirmation primitive, *que chez les lapins l'infection par voie nerveuse est d'un effet constant.*

Ensuite, nous avons étudié la valeur de cette nouvelle méthode sur les chiens et sur les cochons d'Inde. Nous avons aujourd'hui 23 expériences sur des chiens de différentes races et de tout âge qui. pour la plupart, ont subi l'inoculation dans le nerf sciatique, 3 dans le pneumo-gastrique et 4 dans le médian, et, sur ces 23 expériences, nous avons eu 13 résultats positifs. De même, chez les cochons d'Inde, nous avons constaté que l'inoculation intra-nerveuse ne réussissait pas toujours. Il faut remarquer cependant que quelques chiens, qui n'ont pas succombé, ont présenté toutefois les premiers symptômes du mal, tellement évidents, que nous avons pu marquer sur leurs étiquettes respectives le terme de la période d'incubation. Mais, peu à peu, ces symptômes se sont dissipés, et, sur une série de 6 animaux inoculés simultanément, parmi lesquels 4 sont morts enragés, nous avons pu nous assurer que l'un des survivants avait acquis l'immunité et était devenu réfractaire même à l'inoculation sous la dure-mère.

Il faut évidemment faire, dans l'interprétation de ces résultats, la part de la résistance particulière de chaque espèce, et se rappeler la sensibilité du lapin vis-à-vis du virus rabique. Mais peut-être faut-il attribuer aussi une partie des insuccès chez les cobayes et chez les chiens à ce que la petitesse des nerfs chez les premiers et l'abondance du tissu conjonctif dans les nerfs des chiens sont un obstacle à l'injection du virus dans la substance même du nerf. En fait, même chez les lapins, l'infec-

1. Pour les détails de ces recherches, nous renvoyons le lecteur au *Giornale internazionale delle Sc. mediche*, Napoli, 1889, où le travail vient de paraître au complet.

tion peut échouer si le virus est simplement introduit dans le névrilème, et non pas dans l'épaisseur du nerf[1].

Voici d'ailleurs d'autres expériences, desquelles on peut tirer un argument en faveur de cette interprétation.

Si on envisage celles qui précèdent, on peut trouver que la théorie de la propagation nerveuse de l'infection rabique n'est pas suffisamment étayée par une expérience d'inoculation dans les nerfs, qui dépose le virus dans les gros troncs nerveux et tout près de l'axe cérébro-spinal. Mais on peut, en modifiant la méthode, arriver à inoculer de très petits filets nerveux. Il suffit de faire une toute petite incision de la peau dans un point que l'on sait, par une étude anatomique préalable, recouvrir un rameau nerveux superficiel; on soulève ce rameau sur la pointe d'un bistouri, on le coupe; on fait ensuite tomber une goutte de virus, de façon à en baigner les deux tronçons; enfin, on ferme l'incision par un point de suture. En faisant ces expériences, on a soin, en outre, d'avoir comme contrôle d'autres animaux opérés de la même manière, mais auxquels on ne tranche pas le filet nerveux.

Or, cette inoculation intra-nerveuse de la rage, réduite ainsi à une *petite blessure cutanée avec lésion des nerfs placés au-dessous*, nous a donné, pour le lapin, un résultat aussi sûr que l'inoculation pratiquée dans l'épaisseur des gros troncs nerveux et tout près de leur point d'attache à l'axe cérébro-spinal. Nous pouvons en dire autant pour les cobayes. Par contre, l'inoculation faite en respectant l'intégrité du filet nerveux ne nous a pas toujours donné la rage chez ces espèces d'animaux.

Il va sans dire que nous retrouvons ici les conditions de transmission de la rage par voie nerveuse, c'est-à-dire la constance d'un rapport entre le siège de l'inoculation et le développement des symptômes morbides; on peut même, en sacrifiant prématurément les animaux, démontrer que le virus se cultive d'abord dans la partie de la moelle épinière où aboutit la fibre inoculée, ce qui est une preuve directe de ce que M. Pasteur a énoncé à propos de variabilité des symptômes de la rage, en écrivant : « Il y a tout lieu d'admettre que leurs caractères dépendent de

1. Voir à ce propos les expériences de M. Bardach, *l. c.*

« la nature des points du système nerveux, encéphale et moelle « épinière, où le virus se localise et se cultive [1]. »

Nous empruntons à notre journal quelques-unes des nombreuses expériences faites avec cette dernière méthode d'inoculation des petits filets nerveux.

a. On inocule avec le même virus 4 lapins, 2 dans une patte antérieure et les 2 autres dans une patte postérieure, en coupant, dans chacune des deux séries, le nerf à un seul animal, de sorte que chez l'autre le virus humectait simplement la surface du petit nerf protégé par le névrilème. Des deux lapins inoculés à la patte de devant, celui dont le nerf avait été tranché mourut accidentellement le troisième jour, l'autre ne donna aucun signe de maladie. Les lapins inoculés aux pattes de derrière moururent tous les deux enragés. Mais celui auquel on avait coupé le nerf tomba malade au bout de huit jours (le virus employé venait d'un lapin de passage devenu enragé le sixième jour), tandis que l'autre présenta une incubation de quinze jours. Chez ces deux animaux, on nota toute une suite de phénomènes typiques de la rage spinale, caractérisée par la paralysie ascendante à partir du membre inoculé, et on remarqua encore chez le premier, chose très importante, que la blessure cutanée, qui paraissait déjà cicatrisée, fut trouvée rouverte et déchirée le neuvième jour.

b. Trois lapins ont été inoculés à la patte de devant, avec section du nerf à deux seulement d'entre eux. Ces deux-ci tombèrent malades le 8e jour, en montrant d'abord la paralysie du membre inoculé, et puis tous les symptômes de rage bulbaire. Le lapin inoculé sans la section du nerf est mort au bout de 27 jours, d'une maladie autre que la rage, comme l'a prouvé l'expérience de contrôle.

c. On a inoculé 2 lapins, le premier à la patte de derrière, le second à la patte de devant, et on les tua tous les deux, le 9e et le 12e jour, quand on remarqua que les symptômes de l'infection commençaient à se manifester par les troubles de mouvement du membre inoculé. On inocula ensuite à des cobayes, par trépanation, le bulbe et le renflement lombaire de ces deux lapins.

Le bulbe du lapin inoculé à la patte de devant donna la rage

1. *Comptes rendus*, t. XCV, p. 1187, 1882.

après 5 jours d'incubation ; le renflement lombaire seulement après 8 jours d'incubation. Avec l'autre lapin il n'y eut d'inoculation positive que celle de la moelle lombaire, ce qui prouve que le virus n'avait pas encore atteint le bulbe.

II

Dans notre premier travail, nous avons avancé que le virus de la rage, déposé dans les nerfs, atteint les centres nerveux en se cultivant le long de la substance propre du nerf. Pour mieux le démontrer, nous avons eu recours à la section de la moelle épinière, dans le but de constater si l'on pouvait, par ce moyen, intercepter la marche progressive du virus.

Pour cela nous avons dû sacrifier bon nombre d'animaux (36), car beaucoup, on le comprend, ne résistent pas à l'opération ou à ses suites.

De plus, pour éviter une cause d'erreur que nous avons remarquée, à savoir le rapprochement des deux tronçons de la moelle sectionnée, nous avons dû en enlever de un demi à un centimètre, ou bien laisser ouverte la plaie en appliquant entre les deux tronçons de la charpie aseptique.

En prenant ces précautions on arrive régulièrement à ce résultat important que, si le virus a été inoculé dans le nerf sciatique, on le retrouve ensuite dans le nerf sciatique de l'autre côté et dans la partie inférieure de la moelle, mais non pas dans la portion qui est au delà de la section ; tandis qu'on observe le fait opposé chez les lapins inoculés par trépanation. C'est ce que nous avons pu constater 9 fois sur 12 chez des animaux opérés (lapins, chiens, cobayes), qu'il nous est arrivé de garder en vie pendant un temps assez long. Les 3 cas, dans lesquels la section de la moelle épinière n'a pas empêché la diffusion du virus, appartiennent aux premiers essais, lorsque nous ne nous étions pas encore aperçus que les tronçons, après une section simple, peuvent aisément revenir en contact.

On pourrait donc espérer voir résister à la rage un animal inoculé dans le sciatique avec section préalable de la moelle épinière, si l'opération était moins grave et l'expérience moins délicate. Nous n'avons pas, en inoculant le virus fixe, dépassé la limite de 15 jours, et nous ne croyons pas qu'il soit facile d'obtenir

mieux. Mais nos résultats nous semblent assez concluants. Soit qu'on dépose le virus à la surface du cerveau, soit qu'on l'injecte dans l'épaisseur d'un nerf périphérique, sa diffusion reste régulièrement interceptée au moyen d'une section convenable de la moelle épinière, et l'expérience, jusqu'à preuve contraire, n'indique point que le virus soit repris par les voies lymphatiques ou sanguines pour être transmis aux autres parties du système nerveux central.

III

Après avoir étudié les conditions qui président au développement de l'infection rabique par voie nerveuse, nous avons cru devoir en faire autant pour l'inoculation dans les veines, dont M. Pasteur a fait la base expérimentale de la théorie sanguine de la rage.

Et, avant tout, nous nous sommes adressé cette demande : Est-ce que le développement de l'infection par voie sanguine se fait d'une façon aussi déterminée que par l'inoculation intra-nerveuse? En d'autres termes, dans quelle partie du système nerveux central le virus déposé dans une veine va-t-il se localiser tout d'abord? Une pareille demande paraîtra peut être étrange à première vue. Comment un virus injecté dans le sang, et arrivé au cœur, pourrait-il avoir une destination déterminée? Mais il faut se rappeler une observation très importante de M. Pasteur, qui a vu que l'inoculation dans les veines donne « le plus souvent des « rages paralytiques, et, en sacrifiant des chiens au moment des « premiers symptômes, et en étudiant ensuite comparativement « les virulences de la moelle, principalement au renflement lom- « baire, et la virulence du bulbe, on reconnaît que la moelle pou- « vait être rabique, alors que le bulbe ne l'était pas encore [1]. »

Il était par conséquent de la plus grande importance pour nous de voir si le fait observé par M. Pasteur était le résultat ordinaire de l'inoculation intra-veineuse. Dans ce but, non seulement nous avons étudié attentivement la forme clinique de l'infection expérimentale, et sacrifié les animaux prématurément pour faire des inoculations de contrôle de la substance cérébrale

1. *Comptes rendus*, t, XCVIII, p. 457, 1884.

bulbaire et du renflement lombaire ; mais encore et plus spécialement nous avons pratiqué la section de la moelle épinière, avant d'injecter le virus dans une veine. Et voici les résultats de nos expériences.

a. Un chien et un lapin sont inoculés avec du virus fixe dans la veine fémorale, et un autre chien dans la jugulaire externe, après section de la moelle épinière. Ces animaux meurent respectivement au bout de 9, 15 et 12 jours, et par l'expérience nous avons trouvé virulente seulement la moelle lombaire dans le premier chien, et seulement le bulbe dans le second chien et dans le lapin.

b. Le 5 juillet, on inocule trois cobayes dans la veine jugulaire ; on les tue successivement après 3, 9 et 13 jours, et on inocule pour contrôle la substance cérébrale, le bulbe et la moelle lombaire de chacun d'eux. Or les contrôles du premier animal ont tous été négatifs, mais les contrôles bulbaires du second et les contrôles médullaires du troisième ont été positifs.

c. Nous avons aussi sacrifié prématurément deux lapins, qui avaient été inoculés dans la veine fémorale. Le premier, tué le 8e jour, ne donna lieu qu'à des contrôles négatifs (On a obtenu un résultat semblable avec un lapin mort au bout de 7 jours, qui avait été inoculé après section de la moelle épinière). Le second fut sacrifié le 13e jour, et 2 cobayes trépanés et inoculés avec son bulbe tombèrent malades au bout de 7 et 8 jours, tandis qu'un troisième cobaye inoculé avec le renflement lombaire ne tomba malade qu'après 22 jours, et mourut sûrement de la rage, ce qui fut confirmé par l'expérience. Dans ce cas la durée différente de l'incubation dans les contrôles donne lieu de croire que la fixation initiale du virus chez le lapin s'est effectuée dans la partie supérieure de la moelle épinière.

Pour ce qui est du jugement à tirer de la forme clinique de la maladie expérimentale étudiée jusqu'à la mort, nous avons 5 observations chez des lapins, inoculés deux dans la veine auriculaire et trois dans la fémorale. Nous avons eu deux fois, une fois dans chaque série, la paralysie d'emblée, tandis que les autres animaux ont présenté, avant l'apparition de la paralysie, des phénomènes évidents d'excitation, tels que élévation thermique, refus d'aliments, incoordination de mouvements, etc., comme on les remarque chez les lapins trépanés.

Nos expériences confirment donc bien ce qu'avait vu M. Pasteur; mais elles montrent en même temps que la fixation initiale du virus dans la partie inférieure de la moelle épinière, à la suite de l'inoculation intra-veineuse, n'est pas un fait ordinaire : on a même de nombreuses expériences qui indiquent d'une manière constante la possibilité de la fixation initiale du virus dans la moelle allongée. De plus, nos résultats nous semblent à l'abri de toute objection relative à l'infection simultanée, pendant l'opération, de filets nerveux, d'où résulterait une localisation initiale du virus en rapport anatomique avec le siège de l'inoculation. D'abord la durée plus longue de l'incubation enlève toute valeur à cette hypothèse, puis, nous nous sommes mis à l'abri de cette cause d'erreur, soit en coupant avec le thermo-cautère, à l'exemple de M. Pasteur, l'oreille des animaux au-dessous du point d'inoculation, soit en retranchant une portion de la veine inoculée après double ligature, et en désinfectant soigneusement le champ de l'opération : en outre, en n'injectant jamais qu'une émulsion assez fine, filtrée au papier dans un petit appareil stérilisé à la chaleur, nous avons évité les thromboses que pourraient produire dans les réseaux capillaires des parcelles inégales de matière nerveuse. Ces doutes une fois écartés, on peut conclure que le virus rabique inoculé dans les veines est emporté par le sang en différents points du système nerveux central, et que, par conséquent, la forme clinique de la maladie ne saurait être toujours la même.

IV

Nous avons été conduits aux mêmes conclusions par plusieurs expériences d'inoculation dans le péritoine, méthode préconisée par MM. Celli et de Blasi [1] pour étudier comment le virus se répand par les voies lymphatiques, et qui nous a semblé préférable à la méthode d'inoculation sous-cutanée; car dans celle-ci, on ne saurait *a priori* exclure, surtout depuis nos expériences, l'action des filets nerveux périphériques. Nous avons vu ainsi qu'on peut bien communiquer la rage aux animaux (lapins, cobayes), mais à la condition d'employer beaucoup de

1. *Stazione di vaccinazioni antirabiche. Relazione del suo primo anno di vita 1887-1888*, Palermo, 1888.

virus, pas moins de 1cc; MM. Celli et de Blasi n'inoculaient pas moins de 2cc de virus à des petits lapins. En employant le virus fixe et en opérant surtout sur les cobayes, nous avons obtenu le développement de la maladie avec une période d'incubation qui a varié de 9 à 15 jours. Pour bien nous fixer sur la localisation initiale du virus dans le système nerveux central de ces petits animaux, nous avons préféré les tuer prématurément après infection, et plusieurs expériences nous permettent de conclure que le virus rabique, en partant de la cavité péritonéale, peut aller établir ses premières colonisations, soit dans le bulbe, soit dans la portion terminale de la moelle épinière.

En résumé, les expériences exposées jusqu'ici tendent à établir que si, dans l'inoculation du virus rabique dans les nerfs, l'infection des centres nerveux est en rapport avec la porte d'entrée du virus, cela n'arrive pas quand le virus est injecté dans le sang ou dans la lymphe, à l'aide desquels il atteint l'axe cérébro-spinal sans aucune destination déterminée. Voyons maintenant comment ce principe peut s'appliquer en particulier à la rage humaine. Nous avons déjà avancé, en nous appuyant sur l'observation attentive de bon nombre d'hydrophobes, qu'il y avait une certaine concordance entre le siège de la lésion et le développement des symptômes les plus caractéristiques de la rage. Cela apparaît avec la plus grande évidence, surtout dans les cas rares de rage dite paralytique, que nous avons observée régulièrement chez les mordus aux membres inférieurs. Aux observations de ce genre, enregistrées dans notre premier travail, nous pouvons aujourd'hui en ajouter une autre, concernant une paysanne de Somma Vesuviana (Nicoletta Spera), décédée le 25 octobre 1888 à l'hôpital des Incurables. Elle avait été mordue, 54 jours auparavant, à la jambe gauche, et n'avait appliqué aucun remède, ni local, ni général. Quand elle se présenta pour être reçue à l'hôpital, le médecin de garde, M. le Dr Tedeschi, à l'amabilité duquel nous sommes redevables de cette observation, remarqua que tandis que les symptômes d'aérophobie et de dysphagie étaient à peine apparents, cette malheureuse était déjà paralytique, car elle ne pouvait se tenir debout. Une irrésistible envie d'uriner et d'aller à la selle accompagna bientôt la paralysie des jambes ; les facultés mentales

conservèrent cependant toute leur lucidité jusqu'à peu de temps avant la mort, qui fut précédée par un délire religieux tranquille.

Dans les cas plus ordinaires de la forme clinique dite *convulsive, furieuse, bulbaire,* le rapport sur lequel nous avons appelé l'attention est encore justifié par ce fait, que le plus grand nombre de cas de rage est donné par les morsures à la tête, aux bras et aux mains. Cette année même, il nous est arrivé de recueillir plusieurs observations de ce genre, se rapportant toutes à des individus qui avaient été mordus aux parties supérieures du corps, et on en trouverait d'autres dans ces *Annales*, dans les comptes rendus cliniques de l'Institut Pasteur. Il est surprenant, par exemple, qu'on observe presque toujours ces symptômes prodromiques de souffrance locale au siège de la morsure, ce qu'on ne saurait bien comprendre avec l'idée de la transmission du virus par le sang.

Il paraît donc que le développement de la rage après morsure s'accorde en général avec la loi que nous avons vue régler la reproduction expérimentale de la maladie par voie nerveuse. Nous ne voulons pas dire que les choses se passent toujours ainsi, et que la théorie nerveuse de la rage soit la seule acceptable. Mais nous tenons seulement à faire remarquer qu'elle n'a pas seulement l'appui de l'expérience des inoculations intranerveuses, mais que l'observation clinique se trouve d'accord avec l'expérience pour justifier encore une fois notre assertion, que *tous les cas de rage humaine où l'évolution des phénomènes symptômatiques est en rapport avec le siège des morsures, témoignent manifestement en faveur de l'absorption du virus par voie nerveuse.*

SUR LE PLÉOMORPHISME DES BACTÉRIES

PAR M. S. WINOGRADSKY.

Un article de M. Metchnikoff, dans le n° 2 de ces *Annales*, me conduit à parler encore une fois d'une question bien des fois déjà discutée dans la littérature bactériologique, celle du pléomorphisme des bactéries.

M. Metchnikoff est un partisan de la doctrine pléomorphiste. Il nous la représente, dans un court aperçu historique, comme gagnant lentement, mais sûrement du terrain, et devenant actuellement prédominante dans la morphologie des bactéries, à tel point que les adversaires les plus décidés de cette théorie ont été obligés de faire des concessions en sa faveur. Et je serais le seul à m'être posé, dans un récent Mémoire, comme ennemi irréconciliable des idées pléomorphistes, dont la justesse a été reconnue à des degrés divers par la majorité des bactériologues.

Je ne me crois pas aussi isolé que cela. Je pense, au contraire, que les théories de M. Nægeli et de M. Zopf sont en retraite constante devant l'investigation exacte, et que dans l'état actuel de la science, elles ont perdu presque complètement leur raison d'être. C'est ce que je vais essayer de démontrer en exposant sommairement l'histoire de la question depuis son origine.

J'y trouve deux phases ou périodes assez distinctes. Immédiatement après la publication des mémoires bien connus de M. Cohn, la divergence des opinions était complète. Deux écoles s'étaient formées, qui professaient deux doctrines diamétralement opposées. En 1875 M. Cohn les formulait ainsi : « Dans la famille des bactériens, je croyais devoir distinguer un grand nombre de genres et d'espèces ; je comprenais bien qu'il est excessivement difficile de distinguer les variations, produites chez les bactéries par une nutrition modifiée ou d'autres conditions d'existence,

des caractères constants, innés et se transmettant héréditairement, qui seuls peuvent servir de base pour établir des espèces distinctes; toutefois, je croyais pouvoir envisager mon groupement systématique de ces êtres comme naturel en substance... Le bien-fondé de cette division des bactéries en genres et espèces est contesté par ceux qui tiennent toutes les bactéries pour un seul être, prenant dans le cours de son développement, mais surtout sous l'influence des conditions d'existence, des formes très variées[1]... »

M. Nægeli et son école allaient encore plus loin : non seulement ils déclaraient catégoriquement la forme variable, mais aussi la fonction physiologique. Pour eux, il n'y aurait rien à systématiser chez les bactéries. Leur étude morphologique serait inutile, toute tentative de classification presque naïve. « Toutes les bactéries, disait M. Nægeli, ne sont que de courtes cellules, tantôt mobiles, tantôt immobiles. » Ces cellules pouvaient, selon les conditions d'existence, provoquer toutes les fermentations ou toutes les maladies infectieuses.

Sous ce dernier rapport, la théorie de M. Nægeli était déjà alors en contradiction avec les expériences et les idées de M. Pasteur, qui admettait pour chaque fermentation bien caractérisée l'existence de ferments spécifiques. Quant à la morphologie, la théorie de M. Nægeli s'est montrée bientôt aussi peu fondée. MM. Cohn, Koch, Van Tieghem, Prazmowsky et autres nous ont fait connaître un certain nombre de formes, dont le développement, quoique simple, montrait des caractères morphologiques assez saillants, et on a fondé des genres et des espèces sur la base solide des caractères, reconnus, par une étude suivie du développement, comme constants et innés.

Le succès de la doctrine de M. Nægeli ne fut que très éphémère. Il fallut se rendre à l'évidence, et reconnaître qu'il existait chez les bactéries des unités biologiques auxquelles on devait attribuer le caractère d'*espèces*, et déjà la différence des opinions si complète à l'origine s'était beaucoup effacée.

La question est entrée alors dans sa seconde phase. La théorie de M. Zopf a remplacé celle de M. Nægeli. Pour M. Zopf, les bactéries étaient plus que « des courtes cellules »; il admettait

1. *Beitr. z. Biologie d. Pflanzen.* t. I, fasc. 3, p. 142.

la possibilité de fonder des espèces en se basant sur les caractères morphologiques ; il distinguait même un grand nombre d'espèces entre les bactéries : la nouvelle théorie pléomorphiste avait donc adopté l'idée fondamentale de M. Cohn, et si cet accord n'était pas souligné par M. Zopf, il n'en était pas moins clair.

M. Zopf ne s'attaquait qu'au groupement, à la délimitation des genres de la classification de M. Cohn. Or, le mérite principal de cette classification était incontestablement dans les idées dont elle était l'expression. Quant au groupement lui-même, il ne pouvait être que provisoire, puisque la science des organismes en question n'était qu'à ses débuts. Mais M. Zopf a tenu à se ranger du côté de M. Nægeli : il s'est attaché à opposer sa manière de voir à celle de M. Cohn, à mettre en relief plus que de raison leurs points de dissemblance. « La théorie de la constance des formes bactériennes de M. Cohn », disait M. Zopf [1], « n'a qu'un intérêt historique, elle doit faire place à la théorie de la relation génétique des formes bactériennes. »

Voyons si cette nouvelle théorie était mieux établie que l'ancienne.

M. Zopf avait observé chez quelques espèces de bactéries des stades de développement, rappelant les formes caractéristiques des genres de M. Cohn. De là la conclusion que ces genres ne sont que des stades, des formes de végétation d'espèces multiformes. Mais il n'a pas été prouvé que ce développement compliqué fût la règle générale pour les bactéries ; s'il restait à l'état d'exception, cela ne renversait pas la classification provisoire de M. Cohn, puisqu'il y en a, de ces exceptions, de ces espèces difficiles à classer, dans toutes les classifications, même les plus parfaites. De fait, M. Zopf ne connaissait pas, pour la grande majorité des bactéries, des phénomènes de développement semblables à ceux des *Cladothrix* et *Beggiatoa*, mais il lui a suffi d'admettre qu'on ne les connaissait pas *encore*, et cet obstacle ne l'a pas empêché de généraliser ses résultats.

La théorie de M. Zopf n'était évidemment qu'une hypothèse, appuyée sur un nombre de faits très restreint. A cette hypothèse des « relations génétiques », c'est-à-dire du développement compliqué des espèces bactériennes, il en joignait une autre, celle

1. *Die Spaltpilze*, 1883, p. 5.

de leur « variabilité selon le milieu ». « La transformation d'une forme bactérienne en une autre, disait-il, dépend, comme l'a déjà dit M. Nægeli, généralement des conditions de nutrition. » Cette supposition de la variabilité selon le milieu était sans doute le lien qui réunissait les deux théories pléomorphistes dans un camp, mais elle ne s'appuyait sur aucune preuve.

Que devons-nous entendre par *constance de forme* et *variabilité?* Jusqu'à quel point un être vivant peut-il être constant de forme, et où doivent être tracées les limites en dehors desquelles il commence par être variable? Il fallait commencer par s'entendre sur le sens des mots. On ne l'a pas fait à temps, et une polémique faite de malentendus s'ensuivit. Les uns prenaient le mot constant dans son sens grammatical, et demandaient par exemple qu'une sphère bactérienne fût toujours une sphère, sans songer que ce degré de constance n'appartient qu'aux corps inertes. D'autres prenaient ce même mot dans un sens plus physiologique; mais alors, dans une même espèce à développement simple et uniforme, les uns voyaient une preuve de variation, les autres une preuve de constance.

Au risque de dire des choses très banales, je suis donc obligé de m'arrêter sur ces termes : *constance de forme* et *variabilité* ou *pléomorphisme* pour tâcher d'en donner une définition claire. C'est la seule façon de bien poser les questions.

Que la forme varie avec le développement, qui est une succession de formes, cela s'entend de soi-même. Tout être vivant, supérieur ou inférieur, a son évolution, et la seule constance morphologique qui existe est celle du développement.

Ainsi nous envisageons les organismes supérieurs comme constants de formes, quoiqu'ils passent de l'œuf à l'état adulte par un très grand nombre de formes. Évidemment, la seule définition logiquement possible de la constance est la suivante : une espèce est constante quand son développement présente toujours les mêmes formes, abstraction faite des variations individuelles peu importantes.

Mais la nature morphologique de l'espèce ne peut se manifester que dans des conditions favorables à son existence. Dans de mauvaises conditions, sous des influences délétères, s'il n'y a pas arrêt de végétation ou formation d'organes de conservation, il y a végétation pénible, accompagnée de phénomènes

morbides, pathologiques, qu'on ne met généralement pas sur le même rang que les phénomènes normaux, et dont l'apparition ne fait pas qualifier de variables les espèces qui les subissent [1].

A côté de ces espèces invariables, nous en connaissons d'autres, dont le développement se modifie complètement et *tout d'un coup* sous l'influence de conditions spéciales. Les formes nouvelles qu'elles prennent ne peuvent être aucunement interprétées comme dégénératives, puisqu'avec elles l'espèce se conserve et se propage indéfiniment. Ces modifications peuvent être plus ou moins profondes et compliquées, mais elles ont ceci de commun, qu'elles font place à d'autres, aussitôt que cessent les influences spéciales qui les provoquent. On pourrait citer beaucoup d'exemples, celui du *Mucor raremotus*, végétant sur la surface des milieux nutritifs ou submergé dans un liquide sucré suffira. C'est à ce genre d'organismes que je réserve l'épithète de *variables* ou *pléomorphes* [2].

Après cette digression, qui n'était pas inutile, il n'est pas difficile de poser clairement les questions. On peut les formuler ainsi :

1. Il me semble que c'est oublier ces principes que d'interpréter dans le sens d'une variabilité les modifications de développement observées dans les milieux antiseptiques, sans qualifier en même temps ces modifications d'anormales.

Mais, ne voulût-on pas reconnaître la justesse de cette critique, il serait toujours difficile d'être d'accord avec M. Wasserzug, qui a fait avec le *Micrococcus prodigiosus* des expériences (Voir ces *Annales*, t. II) sur la variabilité de cette espèce selon le milieu. Qu'a-t-il observé? Que cette bactérie, dans des conditions favorables quelles qu'elles soient, conserve jusqu'au moindre détail son mode de développement; que quand il y a gêne de végétation, d'où qu'elle vienne, ce développement se modifie mais toujours dans le même sens. Chauffage, substances toxiques ou acidité légère du milieu produisent exactement le même effet; ainsi la qualité du milieu, ou généralement de ces influences délétères, n'est pour rien dans ces modifications.

En quoi consistent-elles? Cet organisme est un « Micrococcus » ovale, dit M. Wasserzug, et il se transforme en « bacille » et filament. Mais aucune espèce ne peut être caractérisée par une forme géométrique fixe, et M. Cohn ne l'a jamais fait. C'est en considérant tout le développement qu'on caractérise un organisme. M. Flugge (*les Microorganismes*, p. 287), par exemple, donne la caractéristique suivante du même organisme, qu'il appelle *Bacillus prodigiosus* : « Cellules elliptiques dont le grand diamètre égale à peu près 1 μ, ayant avant la division la forme de bâtonnets, formant quelquefois des filaments. Si la multiplication est rapide, les courtes cellules ovoïdes sont prédominantes... si la végétation est lente, il se forme plus de bâtonnets et de filaments. » Les « variations » provoquées par M. Wasserzug n'ont pas dépassé les limites de cette caractéristique.

2. Ces quelques considérations générales sont presque identiques avec celles qui ont été déjà exprimées par feu le professeur de Bary dans son Traité de mycologie et ses Leçons sur les bactéries.

1. Les groupes de M. Cohn (Micrococcus, Bacillus, etc.) sont-ils naturels, c'est-à-dire le développement des espèces est-il aussi simple que le croyait ce savant, ou plus compliqué, embrassant une série de stades différents?

2° Le développement des bactéries, qu'il soit simple ou compliqué, est-il variable sans l'influence d'agents extérieurs? Le pléomorphisme est-il la règle générale ou l'exception?

Voyons jusqu'à quel point on a poussé la solution de ces problèmes.

Je n'insisterai pas sur les modifications de détail qu'a imposées au système de M. Cohn la marche rapide de nos connaissances sur les organismes en question. Elles ne sont pas certainement définitives, et le seul point intéressant est de savoir si ces connaissances nouvelles ont confirmé ou non l'idée fondamentale de cette classification : l'extrême simplicité du développement des espèces bactériennes. La réponse ne peut qu'être affirmative.

La preuve est qu'on rencontre encore, dans tous les traités de bactériologie, de ces mentions d'espèces uniformes au plus haut degré. Une preuve meilleure encore résulte de la comparaison des classifications données dans les deux éditions de 1883 et 1886 du traité de bactériologie de Zopf[1].

En 1883, le pléomorphisme était la règle générale ; ce qui ne paraissait pas pléomorphe était « insuffisamment connu ». Les bactéries étaient divisées en quatre groupes : *Coccacées*, *Bactériacées*, *Leptotrichées* et *Cladotrichées*. Le groupe *Coccacées*, « ou la forme coccus était la seule connue », ne contenait qu'une seule espèce : *Leuconostoc mesenteroïdes*; les *Bactériacées* comprenaient les deux genres *Bacterium* et *Clostridium*. Les genres *Spirillum* et *Vibrio*, du groupe *Spirobacteria* de M. Cohn, étaient supprimés, comme n'étant que des stades de développement des espèces des *Leptotrichées* et *Cladotrichées*.

En 1886, ces deux derniers groupes, contenant un petit nombre d'espèces, sont seuls restés les mêmes, tout le reste est complètement modifié. M. Zopf a visiblement renoncé à voir ses espérances confirmées par les faits et a changé sa classification. Les *Coccacées* se composent de 5 genres riches en espèces : *Strepto-*

1. *Die Spaltpilze*. Breslau, 1883.

coccus, *Merismopedia*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Ascococcus;* et ce groupe ne diffère pas par sa caractéristique du groupe *Sphærobacteria* de M. Cohn, il est seulement plus riche en genres et en espèces. La caractéristique des *Bactériacées* est conçue en ces termes : « possèdent le plus souvent les formes de coccus, de bâtonnet court, de bâtonnet long, de filament ; les premières peuvent manquer... Filaments droits ou enroulés en spirale. » C'est la caractéristique des deux groupes *Desmobacteria* et *Spirobacteria* de M. Cohn réunis ensemble, seulement M. Zopf y a ajouté « des formes de coccus ». Mais ces coccus ne sont pas la même chose que ce qu'on appelle micrococcus. M. Zopf applique le nom de coccus par exemple à des arthrospores, à des articles du filament, devenus isodiamétriques après division, etc.

De plus, ce groupe contient cette fois 6 genres : *Bacterium*, *Spirillum*, *Vibrio*, *Leuconostoc*, *Bacillus* et *Clostridium*. Voilà donc restitués tous les genres de M. Cohn, les spiralés comme les autres ! Ils sont, il est vrai, autrement groupés et leur caractéristique est un peu modifiée, mais, en dépit de cela, la presque identité des deux classifications ne saurait être méconnue, et la doctrine pléomorphiste a de nouveau battu en retraite !

Le nombre des bactéries pléomorphes s'est ainsi définitivement réduit à quelques espèces formant les groupes *Leptotrichées* et *Cladotrichées* : *Beggiatoa alba*, *Beggiatoa roseo-persicina* et *Cladothrix dichotoma*[1]. Arrivé à ces êtres, je suis dans le domaine de mes longues recherches[2] et je m'y arrêterai plus longtemps, car l'étude morphologique de ces bactéries s'est montrée instructive sur bien des points.

Ces organismes, principalement les formes roses très nombreuses, connues depuis longtemps sous les noms de *Clathrocystis roseo-persicina*, *Monas Okenii*, etc., ont été l'objet des recherches de MM. Cohn, Ray-Lankester, Warming et Zopf. M. Cohn[3] s'est surtout occupé de l'histoire physiologique de ces êtres, mais ce qu'il a dit de leur morphologie était d'accord avec ses idées sur

1. Abstraction faite des genres : *Phragmidiothrix* qui est très peu connu, et *Crenothrix*, où il serait étrange d'interpréter les phénomènes de formation de gonidies, dans des sporanges ou tubes élargis, comme des cas de pléomorphisme. Le genre *Leptothrix* est très mal défini.

2. *Beitraege z. Morphologie und Physiologie d. Bacterien.* Fasc. 1. *Zur Morphologie der Schwefelbacterien.* Leipzig, 1888.

3. *Beitr. z. Biologie d. Pflanzen,* t. I, fasc. 3, 1875.

l'uniformité du développement des bactéries. Tel n'était pas le cas pour les deux mémoires de M. Ray-Lankester [1], parus l'un avant, l'autre après celui de M. Cohn. M. Ray-Lankester a trouvé dans un vase à macération un amas de formes rouges à grains foncés, présentant en abondance tous les états transitoires entre les différentes formes. Leur relation génétique ne paraissait pas douteuse, elle sautait aux yeux; en tout cas, réunir toutes ces formes sous un nom spécifique paraissait l'expression « d'une hypothèse des plus simples ». Ainsi se forma « l'espèce protéenne » *Bacterium rubescens*, dont toutes les bactéries rouges n'étaient que des « phases de végétation ».

M. Warming [2], qui a trouvé ces mêmes organismes sur les plages du Danemark, fut aussi tellement frappé par leurs traits de ressemblance (couleur et granules), par la quantité de formes intermédiaires, par la succession parfois régulière des différentes formes dans un même lieu, pendant une période de végétation, qu'il réunit un assez grand nombre d'entre eux sous le nom de *Bacterium sulfuratum*. Tout en conservant les espèces fondées par M. Cohn, il émit des doutes sur leur autonomie, et se résuma dans les mots suivants : « Les bactéries sont douées, en réalité, d'une plasticité illimitée, et je crois qu'il faudra renoncer au système de M. Cohn et de quelques autres savants, qui caractérisent les genres et les espèces d'après leur forme. »

M. Zopf [3] confirma les résultats précédents, les établit plus soigneusement, les systématisa. Il supprima toutes les espèces de ces organismes rouges, fondées par M. Cohn et autres savants, et les réunit sous le nom de *Beggiatoa roseo-persicina*. Chacune de ces espèces : *Cladothrix dichotoma*, *Beggiatoa alba* et *Beg. roseo-persicina* pourrait, d'après M. Zopf, revêtir toutes les formes caractéristiques des genres de M. Cohn, varier aussi beaucoup de dimensions, et même, ce qui est plus grave que le reste, changer complètement de mode de végétation. Ainsi, une petite cellule sphérique, un coccus, pourrait suspendre ses divisions régulières, s'allonger en filament, ou s'allonger et se segmenter dans deux ou trois directions perpendiculaires et former des

1. *Quarterly journal of microsc. science*, vol. XIII, 1873, et vol. XVI, 1876.
2. *Om nogle ved Danmarks Kyster levende bacterier*, 1876. Avec 5 planches et résumé français.
3. *Zur Morphologie der Spaltpflanzen*, 1883.

colonies planes ou massives, ou enfin produire les belles formes mobiles appelées Monades, etc. La formation et la succession de toutes ces phases dépend exclusivement, d'après cet auteur, des conditions d'existence. Il y aurait ainsi du vrai pléomorphisme avec un cycle de formes plus varié que celui que présentent tous les genres de M. Cohn, réunis ensemble. Quelles sont les influences qui provoquent la formation de telles ou telles formes, M. Zopf ne le disait pas, mais il se réservait de communiquer dans une publication ultérieure « les conditions chimiques exactes de tous ces phénomènes morphologiques. » (*L. c.*, p. 34.)

Mais cette communication de M. Zopf se faisait attendre, et trois ans après la publication de son travail, je repris l'étude de ces organismes pour rechercher les relations entre leur développement et la composition chimique du milieu. Je ne doutais pas au début de l'exactitude des résultats de MM. Zopf, Ray-Lankester et Warming ; leur haute probabilité, surtout pour *Beggiatoa*, était évidente, mais la démonstration de ces faits laissait à désirer. Ces savants n'avaient pas suivi directement, à très peu d'exceptions près, les phénomènes qu'ils décrivaient, ils en avaient déduit la marche de la comparaison des formes apparues spontanément en certains lieux. Et l'histoire de la science des organismes inférieurs ne montre que trop d'erreurs commises dans ces conditions, même par les observateurs les plus soigneux.

La seule méthode sûre était évidemment de faire des cultures pures, en partant de quelque forme isolée, ou d'observer ces formes pendant un temps aussi long que possible, dans quelque appareil de culture permettant le contrôle du microscope. Ce procédé exigeait la connaissance préliminaire des besoins nutritifs de ces organismes et, M. Zopf n'en disant rien, il fallait les trouver. J'y suis parvenu après un travail prolongé.

Je ne suis pourtant pas arrivé à isoler et à cultiver ces formes, que j'appelle maintenant *sulfobactéries*, à l'état pur ; mais j'ai réussi à les faire végéter normalement pendant des semaines dans une goutte d'eau sulfureuse couverte d'une lamelle, à la condition de renouveler fréquemment ce liquide.

Elles facilitaient elles-mêmes l'observation en se fixant si bien sur le verre que les courants de liquide nutritif ne les emportaient pas. Elles échappaient à la méthode pendant leurs phases de mobilité, mais comme ces phases succédaient à des

stades d'immobilité, on attendait pour ne pas perdre ces organismes qu'ils fussent redevenus immobiles et fixés à nouveau.

J'isolais les formes différentes, autant que je le pouvais, ou je les observais sans les isoler dans la même culture, en prenant soin de ne pas perdre de vue les individus choisis pour l'observation. Leur croissance est généralement lente, aussi suffisait-il de passer les cultures en revue deux fois par jour, le matin et le soir, pour être au courant de tout ce qui s'y produisait. J'ai réussi ainsi à suivre sans lacune pendant quelques semaines, et jusque pendant deux mois, le développement d'individus des formes immobiles. Ou bien encore, je multipliais les observations de plus courte durée avec des individus différents de la même forme, ce qui revient à peu près au même.

Le premier résultat de ces observations fut de me montrer que ces organismes, dans les conditions qui paraissaient les meilleures pour eux, ne présentent rien qui rappelle les phénomènes morphologiques compliqués décrits par M. Zopf. Soumis à l'épreuve d'autres liquides nutritifs, contenant du sucre, des peptones, de l'asparagine, des sels d'acides organiques, etc. en concentration différente, ou étudiés dans des infusions diverses, ils ne montraient rien de nouveau, ou il ne réagissaient, et c'était le cas le plus fréquent, qu'en arrêtant leur végétation et en mourant. Je commençais à douter de l'exactitude des résultats de mes prédécesseurs. Mais on aurait pu m'objecter, si je les avais contestés en arguant de mes échecs, que j'avais eu beau essayer des liquides nutritifs très différents, je n'étais pas tombé sur ceux qui peuvent provoquer des variations de forme[1]. Cette objection peut être réfutée et des tâtonnements interminables évités par le petit raisonnement suivant, qui est d'une application générale dans les cas douteux de pléomorphisme.

Si les formes ou stades, donnés comme appartenant à un organisme pléomorphe sont devenus ce qu'ils sont sous l'influence des milieux différents (comme en est convaincu M. Zopf), ils doivent évidemment, mis dans des conditions absolument identiques, tendre à s'uniformiser et finalement devenir semblables[2]. Mais si on les voit au contraire dans la même goutte, dans

1. M. Zopf, il est vrai, ne cite comme liquide de culture, que « l'eau de marais fraîche ».

2. Rappelons-nous l'exemple de *Mucor racemosus* et d'autres organismes pléo-

le même champ du microscope, rester différents, c'est-à-dire se mouvoir toujours dans le même cycle fermé de formes, il n'y a absolument aucune raison de les considérer comme des stades de végétation d'un organisme pléomorphe, et il faut les envisager comme des espèces autonomes.

On peut ainsi, comme dans le cas présent, s'épargner la fatigue des tâtonnements infructueux et se borner à observer les formes, dont les relations génétiques sont soupçonnées, dans des conditions bien adaptées à leurs besoins nutritifs, mais les mêmes pour toutes. C'est à quoi je me suis tenu dans mon travail et le résultat en a été que l'espèce ou les deux espèces pléomorphes des auteurs se sont désagrégées en un grand nombre d'espèces non pléomorphes du tout.

Il est impossible d'entrer ici dans les détails de mon travail, qui, du reste, ne seraient guère clairs sans planches. Ce n'est qu'en peu de mots que je vais caractériser la marche de développement de quelques formes principales.

Mes recherches ont montré que les espèces de M. Zopf, *Beggiatoa alba* et *Beg. roseo-persicina* sont, en réalité, deux groupes d'organismes. Le premier contient les organismes à soufre incolores ; j'en connais deux genres avec plusieurs espèces. Le second se compose de bactéries à soufre colorées en rose ou violet; j'en ai distingué douze genres et à peu près vingt-cinq espèces.

Les erreurs dans lesquelles est tombé M. Zopf, au sujet de *Beggiatoa alba* sont dues en partie à ce que ce savant n'a pas distingué la vraie Beggiatoa d'une autre sulfobactérie incolore, que j'ai appelé *Thiothrix* et qui est très souvent mêlée à la première. En outre quelques phénomènes pathologiques, et même la désorganisation des filaments morts, ont été interprétés par lui comme des phénomènes de reproduction, formation de zooglœa, etc. L'histoire de *Beggiatoa alba* est devenue ainsi très compliquée. En la débarrassant de tout ce qui ne lui appartient pas, il ne reste presque rien à en dire. Les filaments sont toujours flexibles, mobiles et rampant sur les corps solides ; ils ne se cassent qu'irrégulièrement et, pour ainsi dire, accidentellement, à des endroits où ils sont moins solides, où il y a une cellule morte, par exemple. J'ai cultivé plusieurs formes de Beggiatoa, qui ne

morphes, qui prouvent pleinement que cette déduction est conforme aux faits.

différaient que par l'épaisseur de leurs filaments. Mais je n'ai pas réussi à les faire augmenter ou diminuer de diamètre. Ainsi ce sont des espèces ou des variétés constantes, si on veut.

Les filaments du nouveau genre *Thiothrix* ne diffèrent au premier coup d'œil que très peu de ceux de Beggiatoa; ils sont comme ces derniers remplis de granulations sombres et ont quelquefois le même diamètre. Il faut s'y connaître pour les distinguer. Pour étudier cet organisme il est indispensable de l'isoler des filaments de Beggiatoa, qui, toujours très mobiles, lui coupent l'accès de l'air et l'asphyxient. Si on y a réussi, ce qui n'est pas difficile, on trouve que le mode de végétation de Thiothrix est très caractéristique et différent de celui de Beggiatoa. Les filaments sont toujours immobiles et rigides, un peu plus épais vers la base et fixés sur des corps solides par l'intermédiaire d'un petit coussinet gélatineux; ils sont composés de cellules allongées, munies d'une gaine commune, généralement très faible. Quand les filaments ont atteint une certaine longueur, un phénomène caractéristique de reproduction commence: les bouts flottants des filaments se disloquent en une série (quelquefois il n'y a qu'un ou deux) de bâtonnets de longueur diverse et qui se collent sur le verre; après quoi on voit les bâtonnets devenir mobiles, se détacher du filament et s'éloigner très lentement en glissant à l'instar des Diatomées sur des corps solides. Après une courte période de mobilité, pendant laquelle ils ne s'éloignent que peu du filament mère, ils se fixent perpendiculairement sur le verre et s'allongent eux-mêmes en filaments. Comme on voit, cet organisme diffère en bien des points de *Beggiatoa* et se rapproche de *Cladothrix* par tout son mode de végétation, par la structure de ses filaments, mais surtout par la formation des gonidies-bâtonnets mobiles.

Les deux sulfobactéries filamenteuses sont aussi différentes d'habitat; tandis que les végétations blanches des eaux sulfureuses à fond limoneux se composent souvent exclusivement de *Beggiatoa*, les sources sulfureuses à lit de pierres et à courant rapide (comme j'en ai trouvé en Suisse) sont peuplées par les espèces de *Thiothrix*, qui sont, comme on l'a vu, merveilleusement adaptées à leur habitat. Tous les galets de ces sources sont habillés comme d'un velours blanc, se composant exclusivement des filaments de *Thiothrix*.

L'étude morphologique des sulfobactéries rouges est beaucoup plus embrouillée et difficile que celle des sulfobactéries incolores. On a affaire ici à une multitude de formes. Quand elles se développent richement dans un vase de culture, on trouve quelquefois dans le plus petit morceau de la pellicule rouge, qui tapisse les parois du vase, un amas d'une dizaine de formes. On n'a d'autre ressource, pour débrouiller ce mélange, que de fixer les différentes formes dans la même goutte et de ne pas les perdre de vue un seul jour. La patience de l'observateur est mise ici à une rude épreuve.

Dans cette multitude de formes on peut distinguer 2 groupes : l'une est très voisine des *Chroococcées*, l'autre se rapproche des *Flagellées.*

Les espèces de la première forment des colonies, se composant de cellules sphériques ou allongées et rappelant les colonies des Chroococcées : *Merismopedia*, *Clathrocystis*, *Polycystis*, *Aphanothece* et autres. Les colonies, appartenant à des genres différents, se distinguent par le groupement des cellules, leur mode de division, l'abondance ou l'absence complète de gélatine, etc. Toutes présentent des stades mobiles, qui sont ou des petites colonies, ou des cellules isolées, nageant dans le liquide ou rampant sur les corps solides. Le développement de ces organismes est excessivement simple.

Par exemple le genre *Thiocystis*. Les cellules sphériques sont groupées en petites colonies massives de forme irrégulière, englobées en grand nombre dans une enveloppe gélatineuse commune, le tout formant une zooglœa presque sphérique. Les cellules se cloisonnent dans trois directions de l'espace, mais elles ne s'isolent jamais, et c'est la petite colonie tout entière qui se divise en deux parties s'écartant l'une de l'autre, par formation de gelée. Quand la zooglœa a atteint une certaine grandeur, ou peut-être sous l'influence d'agents extérieurs, la gélatine est liquéfiée à quelque endroit, et les colonies, devenues mobiles, s'échappent et roulent assez lestement dans le liquide. Puis en se fixant et se revêtant d'une enveloppe gélatineuse, elles recommencent leurs divisions.

Chez d'autres genres, les colonies à l'état adulte présentent ou une sphère creuse, dont les parois sont formées d'une couche de cellules (*Lamprocystis*), ou un réseau de cellules fusiformes.

réunies par leur bout (*Thiodictyon*), ou un aggrégat difforme dont les cellules sont liées par des fils protoplasmiques, etc. Mais partout la marche du développement a ce trait commun, qu'il se forme préalablement une colonie immobile, se désagrégeant ensuite en petites colonies ou cellules isolées mobiles, qui se dispersent.

Tout autres sont les caractères des genres *Chromatium*, *Rhabdochromatium*, *Thiospirillum*, les Monades rouges de M. Ehrenberg et de M. Cohn. Leurs belles cellules vivent toujours isolées et se reproduisent par scissiparité, elles sont munies d'un grand cil et sont le plus souvent mobiles. Quelquefois les périodes d'activité et de repos se succèdent sans ordre apparent, ce qui dépend, ainsi que l'énergie de leurs mouvements, des conditions de culture. Il existe un très grand nombre d'espèces de *Chromatium*, qui sont très répandues dans les eaux de marais.

L'exemple de pléomorphisme le plus digne de foi, celui des Beggiatoa, se trouvant ainsi ramené à être un exemple de confusion d'espèces autonomes, voyons ce qu'il faut penser de *Cladothrix dichotoma*, réputée aussi comme pléomorphe au plus haut degré. J'ai longtemps cultivé cet organisme sous le microscope dans des conditions variées, mais je ne puis guère plus que dans le cas précédent confirmer les résultats de M. Zopf. Ce qui est exact, c'est la formation de gonidies-bâtonnets mobiles, observée ici par cet auteur pour la première fois. Ce mode de propagation, que nous avons déjà trouvé chez Thiothrix, existe probablement chez beaucoup d'autre bactéries arthrospores, formant des filaments immobiles, fixées sur des corps solides ou libres. Ainsi je l'ai observé chez *Leptothrix ochracea*, organisme intéressant, qui habite les eaux ferrugineuses[1]; M. Kurth[2] chez une bactérie étudiée par lui, le *Bacterium Zopfii*. Outre ces organes de propagation, ces bactéries (excepté Thiothrix) forment encore des organes de conservation, des arthrospores sphéri-

1. L'assertion de M. Zopf, que cet organisme est la forme de végétation de *Cladothrix dichotoma* dans une eau ferrugineuse est erronée. Pour s'en assurer il n'y a qu'à cultiver ces deux bactéries l'une près de l'autre dans une goutte d'eau ferrugineuse : Les filaments de *Leptothrix ochr.* s'y couvrent rapidement de gaînes très épaisses, imprégnées d'ocre, qui sont évacuées par les cellules à mesure qu'elles se forment ; tandis que les filaments de Cladothrix conservent leur gaînes minces, qui restent incolores ou ne se colorent que lentement et faiblement.

2. *Botanische Zeitung*, 1883.

ques. Ainsi que M. Kurth l'a démontré pour *Bacterium Zopfii*, ces « coccus » sont plus résistants à la dessiccation et produisent en germant des filaments. Ces constatations n'ont pas encore été faites pour Cladothrix et Leptothrix.

Dans ces bactéries filamenteuses nous avons le groupe le plus élevé dans l'échelle des bactéries arthrospores. Elles possèdent un thalle végétatif d'une structure différenciée, se propagent par gonidies mobiles, forment, quand la végétation s'arrête, des spores, se comportent, à tout prendre, comme une multitude d'autres organismes, algues et mucédinées, mais sous une forme asexuelle et rudimentaire. A un degré au-dessous de ces Leptotrichées, nous avons des bactéries filamenteuses où le rôle du bâtonnet mobile, comme gonidie, n'est plus si marqué, puis il n'est qu'une forme végétative, etc. L'échelle descendante mène graduellement, par séries de transitions, à de tels degrés de simplicité que le discernement de l'observateur est en défaut. Mais, il ne faut pas se décourager pour cela, comme l'ont fait au début des études bactériologiques certains savants, en déclarant la tâche impossible. Le discernement aiguisé par les difficultés et armé de patience est allé déjà très loin dans le travail commencé par M. Cohn, et on pourra certainement encore reculer les limites derrière lesquelles il n'y a plus qu'une masse confuse de corpuscules vivants sans unités biologiques bien définies.

Nous avons démontré que toute la théorie pléomorphiste nouvelle était basée sur des fautes d'observation. Il est bon de se demander, à ce propos, quelle est la cause des inexactitudes commises. La réponse n'est pas difficile : c'est qu'on s'est écarté du seul chemin présentant des garanties de sûreté absolue dans l'étude morphologique des organismes inférieurs, je veux dire de l'observation directe des phénomènes de développement dans leur continuité. En dehors de cette méthode, le danger est trop grand de confondre des organismes différents ou d'interpréter inexactement les phénomènes morphologiques, d'autant plus grand que les résultats paraissent au premier abord très plausibles ou même très probables. L'expérience très longue de la mycologie, qui a aussi passé par une période où florissaient les théories pléomorphistes, en dit assez. Mon travail sur la mor-

phologie des sulfobactéries démontre encore une fois que les causes d'erreurs sont innombrables et très variées, même dans les cas qui paraissent très clairs, et où l'interprétation des phénomènes morphologiques s'impose, pour ainsi dire, à l'observateur.

Ce sont ces principes de méthode qui m'empêchent d'accepter sans réserves les résultats intéressants de M. Metchnikoff avec la bactérie des Daphnies, le *Spirobacillus Cienkowskii.*

Pour conclure je voudrais de nouveau répéter la phrase qui paraît avoir un peu étonné M. Metchnikoff, que « jusqu'à présent il n'a été trouvé aucun cas de pléomorphisme chez les bactéries », qui soit irréfragablement constaté, cela va sans dire. Mais j'ai ajouté tout de suite qu'il n'y a aucune raison de croire qu'on n'en trouvera pas. Quand on en decouvrira, on aura des bactéries pléomorphes, comme il y a des algues ou des champignons pléomorphes, mais la question du pléomorphisme des bactéries en général ne revivra plus.

Je termine par une nouvelle question. De ce que les théories de M. Nægeli et Zopf sont mal fondées, faut-il conclure à l'impossibilité de faire varier les espèces bactériennes, de produire lentement par des moyens appropriés des variétés constantes? Certainement non ; au contraire, l'expérience des jardiniers et des agriculteurs, par exemple, avec les plantes de culture, rend cette éventualité très probable. Pour les bactéries cette question est toute nouvelle; c'est M. Wasserzug qui y a travaillé le premier. Il faut attendre des faits pour juger.

NOTE SUR LE PLÉOMORPHISME DES BACTÉRIES

PAR M. EL. METCHNIKOFF.

Dans son mémoire *Sur le pléomorphisme des bactéries*, publié dans ce même numéro, M. *Winogradsky* cherche à prouver que le pléomorphisme n'est établi ni pour les différentes formes de bactéries en général, ni pour le *Spirobacillus Cienkowskii*, décrit par moi, en particulier.

J'essaierai en peu de lignes de répondre aux objections de mon savant adversaire, en tachant d'éviter autant que possible les malentendus qui se sont déjà accumulés dans cette question du pléomorphisme des bactériens. D'après moi, le point principal n'est pas de savoir si les théories de Hallier, Naegeli, Cienkowski, Zopf et d'autres encore, sont vraies ou fausses, mais d'établir si parmi les bactériens il existe des espèces qui se présentent sous forme de bacilles, spirilles et coccus, ou bien si ces formes ne se présentent que séparées, et peuvent servir de caractère spécifique. En d'autres termes : existe-il des bacilles qui, au lieu de conserver leur forme de filaments courts ou allongés se transforment en spirilles dans leur évolution normale ? existe-il des bacilles qui se présentent quelquefois sous forme de coccus, c'est-à-dire de bactéries sphériques à l'état végétatif, non sporifère ?

La réponse à ces questions ne peut qu'être affirmative. Oui, il existe des bacilles se transformant en spirilles, comme dans le cas célèbre des bactéries du choléra asiatique. Ces bactéries, rangées d'abord par M. *Koch* dans le genre Bacillus de M. *Cohn*, se sont manifestées ensuite comme de véritables spirilles.

Comme exemple de bacilles présentant les formes bacillaires à côté de formes végétatives de coccus, je citerai d'abord le microbe du choléra des poules, qui est tellement variable qu'on ne sait réellement où commence l'état bacillaire et où finit celui de coccus. Un autre exemple est celui du *Coccobacillus prodigiosus*, qui a été regardé comme un micrococcus par M. *Cohn* lui-

même et qui a été ensuite rangé parmi les bacilles par M. *Flügge*, un des champions les plus zélés de la doctrine monomorphiste. Un autre adepte de cette doctrine. M. *Fränkel* (dans son Traité de Bactériologie), considère également la bactérie en question comme un bacille, mais, en lui conservant le nom de *Micrococcus prodigiosus*, il prouve en même temps combien ces distinctions sont peu tranchées. Une foule d'autres Coccobacillus présentent les mêmes phénomènes de pléomorphisme.

Il existe donc, à côté des bactériens à forme plus ou moins constante, d'autres bactériens qui sont pléomorphes. C'est un fait; admettre ce fait, ce n'est nullement accepter les théories de MM. *Naegeli*, *Zopf* ou bien d'autres. Il se peut bien que les sulfobactéries soient aussi absolument monomorphes que l'affirme M. *Winogradsky*, mais cela ne prouve nullement qu'il n'existe point de bactérie polymorphe.

Pour le cas spécial du *Spirobacillus Cienkowskii*, je dois faire remarquer que cette bactérie n'est pas l'unique exemple de pléomorphisme : il en existe bien d'autres ; elle n'est qu'un cas démonstratif d'une bactérie parasitaire pléomorphe. Si j'ai bien compris M. *Winogradsky*, ses doutes sur l'exactitude de mes assertions à propos de ce *Spirobacillus* sont basés sur le fait que je n'ai pas suivi, sur le vivant, les transformations de cette bactérie dans toutes ses phases d'évolution, car il admet que le « seul chemin, présentant les garanties de sûreté absolue dans l'étude morphologique des organismes inférieurs, est l'observation directe des phénomènes de développement dans leur continuité » (p. 263). Je n'ai pas suivi ce chemin d'abord parce que sur le vivant, même en observant avec les meilleurs objectifs, les spires ne se distinguent pas assez nettement et le spirillum se présente sous forme d'un bacille cylindrique et creux ; ensuite parce que les spirobacilles, éloignés de leur milieu naturel, se présentaient dans des conditions anormales. J'ai donc dû fixer les phases et recourir aux substances colorantes; c'est seulement ainsi que j'ai pu bien distinguer toutes les formes de spirobacillus. En répétant bien des fois mes observations et en les variant comme je l'ai décrit dans mon mémoire, j'ai obtenu des résultats tout à fait concordants et probants. D'après ce que je sais, beaucoup d'observateurs qui ont constaté les transformations des formes bacillaires en spirilles (comme dans le cas du

bacille du choléra asiatique, de celui de Finkler-Prior, etc.), ont également pu voir ces changements sur des préparations colorées avec une sûreté qui ne laisse rien à désirer. Il résulte donc que l'axiome de M. *Winogradsky* sur l'absolue nécessité d'observations consécutives sur le vivant n'est nullement une condition *sine quâ non* d'exactitude. Il ne faut pas oublier qu'il existe un grand nombre de parasites dont l'évolution ne peut presque pas être étudiée sur le vivant et dont le développement est néanmoins suffisamment connu. Il ne faut pas oublier non plus que dans l'embryologie des êtres plus compliqués que les bactéries et les coccidies, les questions les plus difficiles, comme par exemple celle de la formation de différentes couches ou organes aux dépens de telles ou telles cellules, ont pu être résolues d'une manière tout à fait satisfaisante par le moyen qui m'a servi, ce qui n'empêche nullement qu'à côté des faits bien établis il existe des observations erronées.

En insistant sur l'adoption d'une méthode qui, très bonne en elle-même, n'est pas applicable dans des questions qui au contraire peuvent être bien résolues à l'aide d'autres moyens d'investigation, on peut facilement tomber dans l'extrême du doctrinarisme. On tomberait dans un excès tout pareil si on objectait à M. *Winogradsky* que ses résultats sur les sulfobactéries ont été obtenus sans des cultures pures, qui seules pourraient donner des vérités « présentant des garanties de sûreté absolue » et si on exigeait de lui non seulement des cultures pures, mais encore des cultures pures sur des milieux solides. Et pourtant, pour justifier cette critique on pourrait, à l'exemple de M. *Winogradsky*, citer un bon nombre d'erreurs, provenant de ce que les observations étaient faites sans l'aide de cultures pures en général et sans l'usage des milieux solides en particulier. Mais cela ne m'empêche pas de croire à la vérité des résultats de M. *Winogradsky*.

M. *Winogradsky* avoue qu'avant d'entreprendre des recherches sur les sulfobactéries, il ne doutait pas de l'exactitude des données concernant leur pléomorphisme et que ce n'est qu'après des observations prolongées qu'il a changé son opinion.

J'ai assez de confiance dans l'exactitude de mes résultats et dans l'habileté de mon savant adversaire pour croire qu'il changerait aussi d'opinion, mais en sens inverse, s'il voulait bien soumettre mes conclusions à la même épreuve.

REVUES ET ANALYSES

F. Hüppe et G. Wood. Recherches sur les rapports entre le saprophytisme et le parasitisme. I. Sur les inoculations préventives contre le charbon. *Berliner klinische Wochenschrift*, 1889, n° 16.

MM. Hüppe et Wood ont trouvé à plusieurs reprises, dans la terre et dans l'eau, des bactéries qui, non seulement par leur forme mais aussi par leurs propriétés de végétation, présentaient une analogie tout à fait frappante avec la bactérie charbonneuse. Ces microbes saprophytes sont des bacilles endosporés qui, morphologiquement, ne se distinguent des bactéridies que par leurs extrémités plus arrondies. Ils sont immobiles comme les bacilles charbonneux et donnent comme ceux-ci, sur la gélatine, un feutrage blanc de filaments contournés, en liquéfiant la gélatine dans la même proportion que les bactéridies. La croissance des bacilles saprophytiques de MM. Hüppe et Wood est en général plus abondante que chez les bactéridies virulentes ; c'est ce qui s'observe surtout en cultivant les deux espèces à la température ordinaire. On peut se convaincre alors que les saprophytes donnent des spores à des températures beaucoup plus basses que les bactéridies. Cette abondance dans la végétation différencie encore plus les bacilles saprophytiques des deux vaccins charbonneux, caractérisés précisément par leur faible croissance. Mais en revanche ces bacilles ne produisaient aucun effet pathogène sur les animaux, si ce n'est une petite affection locale qui s'observait dans quelques cas chez les cobayes.

MM. Hüppe et Wood ont remarqué que les souris, précédemment inoculées avec des quantités plus ou moins grandes de leur bacille saprophyte, résistaient mieux à l'injection charbonneuse et ne mouraient qu'après un temps beaucoup plus considérable qu'à l'ordinaire. Un certain nombre de souris étaient même devenues tout à fait réfractaires contre des injections de bactéridies plusieurs fois répétées. Il était donc prouvé par ces expériences que le bacille saprophyte pouvait vacciner contre le charbon même les animaux les plus sensibles,

comme les souris. Le même effet préventif, mais à un plus haut degré, a été observé chez les cobayes, dont beaucoup résistent également ensuite à des injections répétées du charbon virulent, et surtout chez les lapins, qui, à de rares exceptions, étaient tous vaccinés par le bacille saprophytique injecté sous la peau.

Dans les cas où les animaux inoculés succombaient au charbon, la mort ne survenait qu'au bout de plusieurs jours et les cultures de bactéridies obtenues dans ces cas se montraient toujours très affaiblies.

MM. Hüppe et Wood supposent que leur découverte — dont la haute importance est tout à fait incontestable — pourrait être un jour appliquée à la vaccination des animaux domestiques, dans le cas où il serait prouvé que leur bacille saprophyte, en soi-même tout à fait inoffensif, donnerait une complète immunité contre le charbon après une seule dose préventive.

METCHNIKOFF.

Dr E. KLEIN. Sur une maladie épidémique des poules, due au *Bacillus gallinarum*. *The Field*, 1889, p. 534.

M. Klein a étudié une épidémie qui en un an, de mars 1888 à mars 1889, a tué environ 400 poules sur les 500 que contenait un poulailler. La maladie ressemble au choléra des poules et a été en effet confondue avec lui, mais un examen soigneux a montré qu'elle en différait beaucoup. Elle débute par une diarrhée d'une matière jaunâtre et fréquemment fluide. Les animaux sont tranquilles, mais ne sont pas somnolents comme dans le choléra. Ils meurent de 24 à 26 heures après l'apparition des premiers symptômes. A l'autopsie, on trouve le cœur rempli de coagulum, le foie un peu élargi, mou et friable, la rate fortement agrandie, molle et flasque, la séreuse intestinale et spécialement la muqueuse des appendices cœcaux hyperémiée.

Le sang du cœur et surtout le tissu de la rate contiennent des bacilles un peu plus longs et plus larges que ceux du choléra des poules. Leur largeur est d'environ 0, 3 μ, leur longueur de 1 a 2 μ. Une petite goutte du sang du cœur, étendue à la surface de la gélatine, donne au bout de 2 à 3 jours de 50 à 200 colonies; c'est moins que dans le cas du choléra des poules.

L'inoculation sous la peau d'une goutte du sang d'une poule morte est fatale aux poules. mais inoffensive pour les pigeons et les lapins : c'est une nouvelle différence, capitale cette fois, avec le choléra des poules, si terrible pour les lapins. Sur les poules même, les deux maladies ne se ressemblent pas. La mort, avec le choléra, survient au

bout de 24 à 36 heures. Avec l'autre maladie, l'animal inoculé reste bien portant pendant 5 jours. La diarrhée apparaît ensuite et le tue le septième ou le huitième jour, avec les symptômes de la maladie naturelle. L'inoculation d'une culture artificielle du bacille donne les mêmes résultats que celle du sang. Dans les animaux morts, on retrouve le bacille dans le sang et les organes.

On le retrouve aussi dans les intestins et dans les déjections des animaux malades, ce qui explique facilement la contagion et le caractère de l'épidémie dans les poulaillers. M. Klein cherche en ce moment les moyens de protéger les poules par une vaccination et exprime l'espoir de réussir.

Dx.

De Blasi et Russo-Travalli. Compte rendu des vaccinations prophylactiques et expériences faites à l'Institut antirabique et de microscopie chimique de Palerme. *Palerme*, 1889.

La statistique des vaccinations antirabiques à Palerme a donné les mêmes résultats qu'ailleurs. Dans une première période, pendant laquelle on a appliqué des méthodes de vaccination non intensive, il y a eu 66 vaccinés avec deux morts. MM. de Blasi et Russo-Travalli commencent maintenant par la moelle de 14 jours et finissent par celle de 3. Ils font deux vaccinations par jour et font durer la cure de 17 à 19 jours. Dans les cas graves, ils augmentent le nombre des cycles et, pour les mordus qui réclament tardivement le traitement, ils font trois inoculations dans les premiers jours, et arrivent ainsi plus vite aux moelles les plus virulentes.

Les 226 personnes qu'ils ont ainsi traitées n'ont donné que 2 morts; mortalité 0,88 pour cent.

Poursuivant parallèlement les recherches inaugurées par M. Celli (V. ces *Annales*, t. II, p. 46), MM. de Blasi et Russo-Travalli ont constaté qu'aux températures entre 35° et 55°, la virulence des moelles ou des émulsions de moelles diminuait plus vite à la lumière qu'à l'obscurité. Ils ont aussi recommencé les expériences d'inoculation intranerveuse de MM. di Vestea et Zagari (V. ce numéro, p. 237) pour savoir s'il existait un rapport entre le point d'inoculation et la période d'incubation de la maladie. Ils ont trouvé :

a, que dans 6 inoculations sur le nerf médian, et dans 12 inoculations dans le sciatique, la période d'incubation a été en moyenne de 11 à 13 jours.

b, elle a été de 6 à 10 jours, dans 12 inoculations dans le nerf facial.

c, elle a été de 8 à 9 jours, dans 12 inoculations dans l'hypoglosse.

d, elle a été de 7 à 9 jours, dans 30 inoculations dans le pneumogastrique.

e, elle a été de 15 à 18 jours dans 4 inoculations dans le grand sympathique.

Ces durées sont des durées moyennes, mais il serait curieux de connaître les variations des expériences individuelles, par exemple pour les 30 inoculations dans le pneumogastrique.

Au sujet des formes cliniques de la rage chez les animaux inoculés dans le nerf médian et dans le sciatique, les auteurs ont trouvé les mêmes résultats que MM. di Vestea et Zagari. La période d'incubation a seulement été chez eux un peu plus longue. Mais les animaux présentaient comme premier symptôme la parésie et la paralysie du membre inoculé. Puis la paralysie gagnait l'autre membre correspondant et, de là, gagnait l'autre moitie du corps.

Recherchant ensuite si la voie de pénétration du virus inoculé dans un nerf était uniquement centripète, ou bien si elle était aussi centrifuge, ils ont conclu, d'un certain nombre d'inoculations dans le pneumogastrique et dans le sciatique, que le virus marchait simultanément dans ces deux directions.

Dx.

Zoeros-Pacha. Notice sur les travaux de l'Institut antirabique de Constantinople. *Constantinople*, 1889.

On a longtemps cru, et quelques personnes croient encore à l'absence de la rage en Orient et en particulier à Constantinople, où les chiens ne manquent pas. Elle y est rare, mais elle n'y manque pas. La preuve, c'est que Zoeros-Pacha, dans le laboratoire antirabique qu'il a fondé à Constantinople, sous les auspices et par ordre de S. M. le Sultan, a déjà vacciné 41 personnes, dont 38 mordues par des chiens sûrement enragés : il n'a pas eu de mort. « Quatre de ces personnes, dit M. Zoeros-Pacha, ont été mordues par des chiens qui ont aussi mordu d'*autres* personnes; ces *autres* personnes, qui n'ont pas eu recours à notre Institut, sont mortes tandis que les personnes mordues par les *mêmes chiens*, mais que nous avons traitées, ont été sauvées. »

Dx.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE [1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — AVRIL 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	**1**	**3**	»	**3**	**11**	»	»	**1**
Morsures à la tête et à la figure — multiples	»	**2**		»	**8**		»	**1**	
Cautérisations efficaces	»	»	»	1	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	2	»	»	7	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	3	»	»	1	»	»
Morsures aux mains — simples	»	**5**	**21**	»	**26**	**69**	»	**4**	**13**
Morsures aux mains — multiples	»	**16**		»	**43**		»	**9**	
Cautérisations efficaces	1	»	»	1	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	7	»	»	25	»	»	3	»	»
Pas de cautérisation	13	»	»	43	»	»	10	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	**2**	**5**	»	**17**	**35**	»	**8**	**12**
Morsures aux membres et au tronc — multiples	»	**3**		»	**18**		»	**4**	
Cautérisations efficaces	»	»	»	3	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	5	»	»	13	»	»	4	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	19	»	»	7	»	»
Habits déchirés	4	»	»	31	»	»	1	»	»
Morsures à nu	1	»	»	4	»	»	1	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	**1**	**1**	»	**7**	**7**	»	**3**	**3**
Cautérisations efficaces	»		»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	1	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	6	»	»	3	»	»
Habits déchirés	»	»	»	2	»	»	3	»	»
Morsures à nu	1	»	»	5	»	»	»	»	»
Totaux. — Français et Algériens	..	25	**30**	..	100	**122**	..	23	**29**
Totaux. — Etrangers	..	5		..	22		..	6	
		A			B			C	
TOTAL GÉNÉRAL					**181**				

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 169 fois ; chats, 10 fois ; vaches, 2 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. JUIN 1889. N° 6

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DIPHTÉRIE

(2e MÉMOIRE),

PAR E. ROUX ET A. YERSIN.

Dans un mémoire publié en décembre 1888 [1], nous avons établi que le bacille décrit d'abord par M. Klebs dans les fausses membranes croupales, et isolé ensuite par M. Lœffler, était la cause de la diphtérie. Inoculées à la surface des muqueuses excoriées des lapins, des cobayes, des pigeons, etc., les cultures pures de ce bacille produisent les fausses membranes caractéristiques [2]; injectées sous la peau, elles amènent la mort avec de l'œdème au point d'inoculation, une dilatation générale des vaisseaux, de la

1. Voir ces *Annales*, n° 12, 1888.

2. Chez les animaux comme chez l'homme, la gravité de la diphtérie ne se mesure pas à l'étendue des fausses membranes. Ainsi, un pigeon inoculé en excoriant un peu la muqueuse de la bouche avec un fil de platine chargé d'une 3e culture du bacille de Klebs sur sérum, mourut en 3 jours, sans que l'on ait vu de fausses membranes dans la bouche. A l'autopsie, on ne trouva que quelques petites fausses membranes minces à la face inférieure de la langue et s'étendant un peu sur les côtés ; elles avaient suffi à produire l'intoxication.

On produit de très belles fausses membranes chez le lapin en appliquant un petit vésicatoire à la face interne de l'oreille, et en ensemençant, sur la surface dépouillée d'épiderme, un peu de bacille diphtérique; en quelques heures, les fausses membranes sont bien développées. Il faut empêcher la plaie de devenir sèche et pour cela enfermer l'oreille dans un petit sac de caoutchouc sans comprimer les vaisseaux de la base. Le tissu de l'oreille devient très rapidement œdémateux. On peut arrêter le développement de la membrane croupale en découvrant l'oreille; la plaie se dessèche alors rapidement à l'air libre.

congestion des intestins et des reins. Chez le cobaye on trouve, en outre, presque constamment, de la rougeur des capsules surrénales et un épanchement séreux dans les plèvres; chez le lapin les plèvres ne contiennent pas de liquide, mais le foie est souvent le siège d'une dégénérescence graisseuse. Lorsque la mort ne survient pas trop rapidement, on observe sur les animaux des paralysies semblables à celles qui suivent la diphtérie chez l'homme. Le bacille diphtérique ne pullule pas dans les organes; on ne le trouve qu'au point d'inoculation, et même il disparaît complètement si la maladie se prolonge. La diphtérie est une intoxication causée par un poison très actif formé par le microbe dans le lieu restreint où il se développe. Nous avons donné la preuve qu'il en est ainsi en montrant que dans les cultures pures du bacille diphtérique il existe une substance chimique spéciale qui, introduite sous la peau des animaux, leur donne la maladie en l'absence de tout microbe vivant[1]. A dose suffisante, elle amène une intoxication rapide, avec tous les symptômes et toutes les lésions qui suivent l'inoculation du bacille lui-même, la fausse membrane seule fait défaut. Les animaux qui reçoivent des doses plus faibles sont souvent atteints de paralysies diphtériques typiques.

La preuve de l'existence de ce poison et la reproduction expérimentale des paralysies diphtériques sont les résultats principaux de notre premier travail, qui a levé tous les doutes au sujet de la spécificité du bacille de MM. Klebs et Lœffler. Aujourd'hui nous voulons appeler l'attention sur quelques-unes des propriétés du poison de la diphtérie.

I

Nous rappellerons d'abord que les cultures du bacille de la diphtérie dans le bouillon de veau légèrement alcalin, deviennent acides dans les premiers jours et qu'elles prennent une réaction alcaline après un temps plus long[2]. Tant que la culture est acide, son pouvoir toxique n'est pas considérable, et il est nécessaire d'injecter aux animaux une grande quantité de liquide filtré pour leur donner l'empoisonnement diphtérique aigu. Plus tard,

1. Le meilleur moyen pour séparer les microbes est la filtration sur porcelaine.
2. Lorsque les cultures sont laissées en repos à l'étuve à 30°-33°, il se forme au bout d'un certain temps une croûte légère à leur suface

lorsque la culture est alcaline, sa puissance toxique a beaucoup augmenté. Nous avons cité, dans notre mémoire de 1888, l'exemple d'une culture qui, filtrée sur porcelaine après 42 jours de séjour à l'étuve, avait fourni un liquide si actif que 1/5 de centimètre cube injecté sous la peau d'un cobaye le faisait périr en 30 heures. Ce résultat a été souvent reproduit avec des cultures de bacilles diphtériques virulents d'origines variées. Avec un liquide filtré après 30 jours, nous avons tué des cobayes en leur injectant 1/8 de c. c. seulement. Ce poison, si meurtrier pour les cobayes, les lapins et les petits oiseaux, agit aussi très énergiquement sur les moutons et les chiens. Chez ces derniers animaux, on peut produire soit l'intoxication diphtérique aiguë, soit l'empoisonnement chronique avec paralysies caractéristiques.

Trois chiens du poids de 8 kilos, de 7 kilos et de 9 kilogr. 500, reçurent dans les veines 20 c. c., 10 c. c., 4 c. c. de liquide filtré. Ils succombèrent tous, le premier en 14 heures, le second en 15 heures, le troisième en 26 heures. Quelques heures après l'injection, ces chiens devenaient tristes, avaient des frissons, des vomissements et de la diarrhée, puis ils étaient incapables de se mouvoir et mouraient presque subitement. A l'autopsie on trouva une dilatation générale des vaisseaux sous-cutanés, une congestion de l'estomac, des intestins et des reins. L'estomac contenait un liquide bilieux et sanglant, l'intestin était rempli par un mucus rouge vineux, qui renfermait en grande quantité des cellules épithéliales de la muqueuse desquammée. L'urine était albumineuse et le sang noir et fluide [1].

Lorsque la dose injectée est plus faible, 2 c. c. par exemple, la maladie dure de 4 à 6 jours, l'animal maigrit beaucoup, ne mange pas, a des vomissements et de l'ictère. La muqueuse de

1. *Expérience*. — Le 16 janvier 1889, à 5 heures du soir, on injecte dans la veine du jarret droit d'un chien pesant 9 kilogr. 500 quatre centimètres cubes d'un liquide filtré très actif. Le 17 janvier au matin, le chien est couché, il frissonne et vomit des matières glaireuses. Dans la journée il a de la diarrhée, et il devient incapable de bouger. Il meurt à 7 heures du soir. — *Autopsie:* Dilatation générale des vaisseaux de la peau, des parois abdominales, des plèvres pariétales. Il n'y a pas de pleurésie ni de péricardite. L'estomac est vide d'aliments, la muqueuse est violacée et baignée par un liquide bilieux sanglant. L'intestin est rempli par un mucus rouge vineux chargé de l'épithélium de la muqueuse, dont les vaisseaux sont dilatés. Les reins sont violacés. La vessie rétractée contient un peu d'urine acide et très albumineuse. Le sang est noir et non coagulé.

la bouche, les conjonctives, la peau du ventre sont manifestement colorées en jaune, et les lésions sont plus intenses que dans les cas aigus. Elles consistent dans une distension des vaisseaux avec hémorragies multiples, un état cirrheux du foie et une altération des reins qui fournissent une urine albumineuse.

Les chiens de 7 à 10 kilos ne meurent pas en général si on leur injecte une quantité de liquide filtré inférieure à un centimètre cube. Ils restent longtemps tristes et affaiblis, ils deviennent paralysés du train de derrière, parfois de tout le corps, puis ils se rétablissent peu à peu.

L'expérience que nous citons en note [1] comme exemple est

1. Le 22 janvier, à 3 heures de l'après-midi, on injecte dans la veine du jarret droit de 3 chiens 2^{cc} (chien n° 1), 1^{cc} (chien n° 2), $1/2^{cc}$ (chien n° 3) d'un liquide filtré très actif. Le 23 aucun des chiens n'a mangé. Le n° 1 et le n° 2 sont très affaissés, ils ne répondent plus aux appels. Le 24 le chien n° 1 est manifestement plus malade; même état qu'hier pour le n° 2 et le n° 3. 25 janvier : les chiens 2 et 3 sont mieux. Le n° 1 reste obstinément couché. Le 26, ce chien a un ictère manifeste, teinte jaune de la peau, de la muqueuse buccale, des conjonctives. Il meurt le 28 janvier.

Autopsie du chien n° 1. — La peau de l'abdomen, les muqueuses sont jaunes. Le tissu cellulaire sous-cutané est jaune, il est semé d'une multitude de petites hémorragies. Le grand épiploon, le tissu cellulaire de l'abdomen et de la poitrine sont criblés d'hémorragies et colorés en jaune. Le foie est un peu rétracté et dur, il crie un peu sous le couteau. La vésicule n'est pas distendue et les canaux biliaires sont perméables. Les reins portent sous la capsule des hémorragies grandes et petites; ils sont durs, la substance corticale est rouge et parcourue par des traînées jaunes. La vessie contient une urine ictérique et albumineuse. A la base du cœur, surtout sur le ventricule droit, il y a des hémorragies. La fibre du cœur est jaune.

Les chiens 1 et 3 sont restés longtemps malades, mangeant peu et devenant très maigres. Peu à peu ils se sont rétablis et au mois d'avril ils commencent à engraisser.

Le 4 mai on injecte de nouveau dans la veine du jarret droit de ces deux chiens 1^{cc} de liquide filtré qui amène la mort des cobayes à la dose 1/4 de c. c. Dès le lendemain les chiens sont tristes et ne mangent pas. Ils restent ainsi jusqu'au 12 mai où l'on remarque que le chien n° 2 a de la paralysie des quatre membres. Il marche avec la plus grande difficulté, les pattes postérieures écartées, les pattes de devant en dehors, il tombe sans cesse. Quand on l'excite à marcher, il fait quelques pas précipités les pattes écartées, puis il roule en avant, les pattes de devant faisant défaut. Il lui est impossible de monter la petite marche de son chenil, il a du tremblement des membres. Ces animaux restent dans le même état jusqu'au 16 mai. A cette date le chien n° 2 est presque complètement paralysé et se lève avec beaucoup de difficulté, ses jambes vacillent et il tombe fréquemment quand il essaye de faire quelques pas. Il a de fréquents tremblements dans les membres, et se plaint quand on le touche comme s'il avait une hyperesthésie générale. Une amélioration survient le 20 mai; les pattes antérieures

très intéressante, et montre combien la ressemblance est complète entre les paralysies diphtériques expérimentales obtenues chez le chien et celles que l'on voit chez l'homme après la diphtérie naturelle. Chez le lapin les paralysies guérissent rarement, elles sont presque toujours progressives et aboutissent à la mort de l'animal. Il en est de même pour le cobaye. Le pigeon et le chien se rétablissent plus fréquemment ; c'est sur le chien qu'il faudra entreprendre l'étude de ces paralysies expérimentales, à cause de la facilité que l'on a chez cet animal pour explorer la sensibilité de la force musculaire.

Le chien, qui est sensible à l'action du poison diphtérique, prend-il la diphtérie quand on l'inocule avec le bacille de Klebs? Un chien vigoureux de 8 kilos succomba en trois jours à la suite de l'inoculation, faite sous la peau du thorax, d'une culture récente sur sérum. Il se produisit un gonflement œdémateux au point de l'injection, l'animal tomba bientôt dans la stupeur, devint incapable de faire un mouvement et mourut après une paralysie complète. Un autre chien inoculé avec la même

paraissent plus solides. Les jours suivants le mieux s'accentue, les pattes postérieures restent toujours très écartées pendant la marche, et il est impossible à l'animal de monter une marche même très basse. Le 29 mai, son train postérieur devient plus ferme, il monte un escalier peu élevé avec beaucoup de maladresse et en tombant. La patte postérieure droite est plus faible que la gauche. A partir de ce moment la guérison se fait rapidement, l'appétit devient meilleur. La marche reste encore un peu indécise à cause du peu de solidité du train de derrière. Elle est surtout difficile sur les terrains en pente. Au commencement de juin il marche et court sans tomber. Il tombe encore quelquefois quand il tourne brusquement, mais il peut être considéré comme guéri.

L'histoire du chien n° 3 est très semblable à celle du chien n° 2. Le 12 mai, c'est-à-dire 8 jours après l'injection de liquide filtré, il a de la paresse des membres antérieurs ; il est encore assez vif, mais il tombe quand il veut franchir le seuil très peu élevé du chenil, les pattes de devant font défaut et il roule en avant. Cette paralysie du train antérieur s'accentue les jours suivants en même temps qu'apparaît de la paralysie du train postérieur, surtout dans la patte gauche. Cet animal reste toujours couché, il faut le menacer pour le faire lever, et il ne peut faire que quelques pas incertains ; il est paraplégique, la patte gauche de derrière fléchit à chaque instant, l'appui sur les pattes de devant est un peu meilleur. Au commencement de juin ce chien fait quelques pas hors du chenil, sa marche est chancelante, et il faut le porter pour le faire rentrer dans sa niche. 10 juin : l'amélioration est considérable, il peut marcher; seulement quand il veut aller un peu vite la patte gauche de devant fléchit et il tombe; le train de derrière est encore vacillant, mais la guérison fait des progrès rapides. Ce chien se plaignait aussi quand on le touchait, au moment où sa paralysie était le plus complète. Ces deux animaux avaient des tremblements fréquents, ils secouaient fréquemment la tête pendant la maladie, il leur était impossible de se gratter avec leur patte de derrière.

culture dans la trachée n'éprouva aucune difficulté à respirer, mais il eut un gonflement du cou suivi d'une prostration profonde, et il succomba le 4e jour complètement paralysé. A l'autopsie on ne trouva pas de fausses membranes dans la trachée. Ces deux animaux présentèrent avant leur mort un ictère très marqué. Les bacilles étaient peu abondants dans l'œdème rouge qui existait chez le premier chien au point d'inoculation, il n'y en avait pas dans le sang. Le microbe de la diphtérie peut donc se développer localement chez le chien et produire l'empoisonnement de l'animal.

Aucune expérience n'a été faite par nous pour savoir si le microbe de la diphtérie inoculé au mouton lui cause quelque maladie, mais un essai fait par M. Nocard à l'École d'Alfort montre que ce ruminant ne résiste pas au poison diphtérique[1]. M. Nocard a injecté sous la peau d'un mouton 5cc du liquide filtré qui a causé l'empoisonnement aigu des trois chiens dont nous avons rapporté tout d'abord l'histoire. Ce mouton a succombé en trois jours avec des accès de dyspnée.

Ces nouveaux exemples de l'action si énergique du poison diphtérique sur le chien et le mouton font paraître encore plus surprenante la résistance des rats et des souris, qui supportent sans malaise des doses mortelles pour un chien de moyenne taille.

II

Nous avons avancé dans notre premier mémoire que le poison de la diphtérie devait être rapproché des diastases par quelques-unes de ses propriétés. En effet, il est modifié par la chaleur et d'autant plus profondément que la température est plus élevée et plus longtemps prolongée. Un liquide filtré, qui injecté sous la peau à la dose de 1/8 de c. c. tuait les cobayes, ne les fait plus mourir, même s'ils en reçoivent 1cc, lors-

1. Le 30 janvier 1889, on injecte sous la peau d'un mouton adulte de taille moyenne, au niveau de l'encolure, 5cc de liquide diphtérique filtré. Le 31, l'animal a des tremblements dans tout le corps. Temp. 40°2. Le 1er février, temp. 41°, le mouton paraît très affaissé. La respiration est très difficile. Le 2 la temp. est de 38°3. La dyspnée est extrême, la marche chancelante, la bête est indifférente à ce qui se passe autour d'elle. Mort dans la nuit du 2 au 3. *Autopsie :* Œdème sanguinolent au point d'injection. Vaisseaux distendus; épanchement dans le péricarde. Taches ecchymotiques sur le péricarde, l'endocarde, et sur la muqueuse intestinale.

qu'il a été chauffé 2 heures à 58° [1]. Il n'est cependant pas absolument inoffensif, puisqu'il produit de l'œdème au point d'injection et tue facilement les petits oiseaux. Le même liquide porté pendant vingt minutes à 100° [2] peut être introduit dans les veines d'un lapin à la dose de 35cc sans lui causer aucun malaise immédiat, tandis qu'avant le chauffage 1/2cc en injection sous-cutanée ou intra-veineuse amenait sûrement la mort. Les animaux qui reçoivent dans les veines ou sous la peau de fortes quantités de liquide chauffé, et qui ne paraissent en éprouver tout d'abord aucun mal, finissent presque toujours par succomber au bout d'un temps plus ou moins long. Ils maigrissent lentement bien qu'ils mangent comme à l'ordinaire, et montrent des symptômes de paralysie, principalement dans les membres postérieurs, quelques jours avant leur mort [3]. La maladie dont ces animaux périssent rappelle tout à fait celle qui atteint les cobayes et les lapins auxquels on injecte de l'urine filtrée des diphtériques ou des macérations d'organes de personnes mortes de diphtérie infectieuse. Nous avons en effet recherché, si dans le corps des malades qui meurent de diphtérie on ne trouvait pas le poison que nous avons découvert dans les cultures du microbe de cette maladie.

1. V. *Annales de l'Institut Pasteur*, décembre 1888, *loc. cit.*

2. Dans toutes ces expériences le liquide était chauffé au bain-marie dans des tubes scellés et presque remplis, afin d'éviter que l'action de l'air vienne s'ajouter à celle de la température. Le chauffage ne causait aucune coagulation dans le liquide, qui restait parfaitement limpide.

3. *Expérience.* — Le 22 novembre 1888, on injecte dans les veines d'un lapin 35cc d'un liquide filtré chauffé 20 minutes à 100°. Avant le chauffage, 1cc de ce liquide introduit dans le sang d'un lapin amenait la mort en 3 jours. Le lapin reste en bonne santé jusqu'au 29 novembre, puis il commence à maigrir; l'amaigrissement continue bien que l'animal mange bien. Il meurt le 5 janvier. Il était paralysé des pattes de derrière depuis le 31 décembre. Aucune lésion apparente à l'autopsie, si ce n'est une diminution du volume des organes par suite de la maigreur.

Expérience. — Le 26 novembre 1888, on injecte dans les veines d'un lapin 35cc du liquide filtré employé le 22 novembre et chauffé 20 minutes à 100°. Ce lapin, qui va bien jusqu'au milieu de décembre commence à maigrir et meurt le 2 janvier 1889 dans un état de maigreur extrême. L'autopsie ne montre aucune lésion.

Expérience. — Le 22 novembre 1888, on injecte dans le péritoine d'un cobaye 35cc d'un liquide filtré très actif chauffé 20 minutes à 100°. Le 23 novembre le cobaye est hérissé et frissonnant. Le 24 novembre il paraît plus vif. Il est trouvé mort le 27 novembre très amaigri : la seule lésion trouvée à l'autopsie est une dilatation des vaisseaux et une congestion intense des capsules surrénales.

Sur un enfant de cinq ans, mort pendant l'hiver d'une diphtérie infectieuse, nous avons enlevé la rate, nous l'avons broyée et mise à macérer dans de l'eau stérilisée pendant deux heures à basse température. Le liquide de macération a été filtré sur porcelaine [1]. Un cobaye reçut sous la peau 8^{cc} du liquide filtré et un lapin 35^{cc} dans les veines. Le cobaye commença aussitôt à maigrir et mourut 5 jours après l'injection. Le lapin a survécu pendant 2 mois; bien portant en apparence dans les premiers temps, il maigrit peu à peu et succomba après avoir été paralysé du train postérieur. Dans un autre cas de diphtérie très toxique [2], observé également en hiver chez un enfant, on recueillit de l'urine au moment où la prostration était la plus marquée, elle fut filtrée fraiche et injectée dans les veines d'un lapin et sous la peau d'un cobaye, suivant la méthode de M. Bouchard. Onze jours après, le cobaye était mort très amaigri; le lapin était paralysé du train de derrière le 45e jour

1. Le 29 novembre 1888, on injecte dans les veines d'un lapin 35^{cc} et sous la peau d'un cobaye 8^{cc} d'une macération de rate d'un enfant de 3 ans, mort dans la nuit du 27 au 28 d'une diphtérie infectieuse. La rate broyée est restée 2 heures dans 60^{cc} d'eau stérilisée à basse température. Le liquide de macération est filtré sur porcelaine, il est légèrement alcalin et parfaitement pur, puisqu'une portion laissée à l'étuve n'a pas donné de culture les jours suivants : c'est ce liquide filtré qui est injecté au cobaye et au lapin. Le 4 décembre le cobaye, qui a beaucoup maigri, est trouvé mort le matin. *Autopsie :* ganglions des aines et des aisselles un peu gros et rouges. Congestion des capsules surrénales. Pas d'épanchement dans le péritoine, ni dans les plèvres; quelques suffusions sanguines dans le tissu cellulaire de l'abdomen le long des gros vaisseaux. On sème du sang du cœur, qui est noir et fluide. Ce sang reste stérile. Il faut noter que les lésions trouvées à l'autopsie de ce cobaye sont semblables à celles qui suivent l'injection des liquides diphtériques dont la toxicité est faible. — A partir du 10 décembre, le lapin commence à maigrir, il continue à manger mais s'affaiblit graduellement, il meurt le 28 janvier après avoir présenté d'abord de la parésie du train postérieur, puis de la paralysie véritable dans les deux derniers jours.

2. Le 2 décembre 1888, on injecte à un lapin dans les veines 33^{cc}, et à un cobaye sous la peau de l'abdomen 8^{cc} d'urine, filtrée sur porcelaine, rendue dans la journée par une enfant de sept ans et demi, atteinte de diphtérie à forme toxique et qui meurt le 7 décembre. L'urine ne contenait pas d'albumine; elle était un peu acide. Le cobaye maigrit dès les jours qui suivent l'injection et il meurt le 13 décembre. Il est très émacié et à l'autopsie on ne trouve aucune lésion notable. On ensemence ses divers organes dans du bouillon qui reste stérile. Le lapin reste bien portant jusque dans les premiers jours de janvier, puis il maigrit, bien qu'il mange beaucoup. Le 16 janvier, on remarque que les pattes de derrière sont très faibles; le lendemain, il a une véritable paralysie du train postérieur, qui le 20 janvier est étendue à tout le corps. Il meurt le 22 janvier très émacié. On ne trouve aucune lésion; tous les organes sont diminués de volume à cause de l'émaciation.

après l'injection et il mourait le 31e jour. Si l'on compare l'histoire de ces animaux à celle des cobayes et des lapins qui ont reçu la culture de diphtérie filtrée et chauffée, on sera convaincu que la cause de la mort est la même dans les deux cas. Le chauffage détruit une grande partie du poison, ou lui fait subir une modification analogue à celle qu'il éprouve dans l'organisme. Quoi qu'il en soit, il nous semble que les faits qui précèdent donnent une nouvelle preuve que le bacille de MM. Klebs et Loeffler est bien la cause de la diphtérie.

III

Conservées en vases clos, à l'abri de l'air et de la lumière, les cultures filtrées de diphtérie restent longtemps toxiques. Dans nos expériences, un liquide filtré était aussi actif après cinq mois que le jour où il avait été mis en tubes scellés. Il n'en est plus ainsi si le liquide est gardé au contact de l'air; peu à peu son pouvoir toxique diminue, et il faut pour tuer les aninaux leur injecter des doses d'autant plus fortes qu'il est plus ancien. Cette action de l'air est très lente à l'obscurité; elle est plus rapide à la lumière solaire. Un liquide diphtérique, qui à la dose de 1/8e de c.c. fait périr un cobaye, est exposé à la lumière solaire dans des tubes clos sans air, et aussi dans des vases fermés seulement par un tampon de coton et où l'air pénètre librement. Après 2 heures d'insolation, 1^{cc} du liquide exposé à l'air tuait les cobayes avec un assez long retard; après 5 heures, injecté à la même dose, il causait à ces animaux seulement un peu d'œdème local. Au contraire, le liquide était resté très actif dans un tube clos laissé au soleil à côté des vases ouverts et pendant le même temps. Bien plus, 10 heures d'exposition en plein soleil n'avaient que très peu diminué le pouvoir toxique du liquide mis à l'abri de l'air. Dans ces essais, la température de l'intérieur des vases n'avait pas dépassé 32°. On sait que les diastases sont, elles aussi, rapidement modifiées par la lumière solaire au contact de l'air.

IV

Les cultures du bacille de la diphtérie n'ont des propriétés toxiques énergiques que lorsqu'elles sont devenues alcalines. Tant que la réaction est acide, il faut des doses notables de

liquide filtré pour produire un effet sur les animaux. La réaction alcaline du liquide est due sans doute à l'oxydation de la matière azotée du bouillon, car elle ne se produit pas dans des cultures faites à l'abri de l'air; de plus, dans les cultures anciennes, il se forme au bout de plusieurs mois des cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien. Nous ne saurions dire encore si l'ammoniaque est la seule base qui prenne naissance dans les cultures à l'air. Parmi les diastases, les unes agissent mieux en milieu alcalin et les autres en milieu acide : l'activité de la pepsine, par exemple, est très diminuée en présence d'un excès d'alcali, tandis que la diastase pancréatique au contraire est inactive dans un liquide acide. Le liquide diphtérique n'étant que peu toxique lorsque les cultures sont encore acides, nous nous sommes demandé si l'addition d'un acide à une culture alcaline diminuerait son pouvoir nocif. Nous avons ajouté à un liquide filtré très actif de l'acide lactique et de l'acide tartrique jusqu'à réaction franchement acide, et nous l'avons injecté à des cobayes. Deux cobayes qui ont reçu ainsi sous la peau 1^{cc} de ces liquides acidulés ont eu des œdèmes peu étendus, et se sont promptement rétablis; un cobaye témoin auquel on avait injecté 1/2^{cc} de la liqueur alcaline succombait rapidement avec les lésions ordinaires. Si on neutralise la liqueur inactive, elle recouvre une grande partie de son activité. Le poison diphtérique est d'autant plus atténué qu'il est resté plus longtemps en contact avec l'acide. L'addition d'acide phénique, d'acide borique, de biborate de soude au liquide toxique a retardé son action sur les animaux, sans toutefois empêcher leur mort. Il n'est pas nécessaire d'ajouter beaucoup d'acide pour diminuer l'énergie du poison de la diphtérie, des doses même très faibles ont une influence marquée. On conçoit qu'il faut étudier avec soin la façon dont la substance active est modifiée par les divers composés chimiques; on trouvera peut-être dans cette voie des indications thérapeutiques importantes.

V

Évaporé dans le vide, sur l'acide sulfurique, à la température de 25° environ, le liquide filtré laisse un résidu qui, en solution dans un peu d'eau, est très toxique, puisqu'il contient, sous un petit volume, la matière active d'une grande quantité de culture. L'alcool à 80° dissout une partie de l'extrait sec en se colo-

rant légèrement en jaune. Cet alcool, évaporé à basse température, donne un résidu brun alcalin, exhalant une odeur spéciale assez suave, et qui, abandonné à l'air, se prend presque tout entier en cristaux. L'extrait alcoolique, fourni par 90^{cc} de liquide filtré, a pu être injecté sous la peau d'un cobaye sans que celui-ci éprouve aucun mal ; l'alcool ne dissout donc pas le poison diphtérique : on le retrouve, en effet, tout entier dans la partie insoluble dans l'alcool. Celle-ci, dissoute dans un peu d'eau, donne une liqueur alcaline très active sur les cobayes et les lapins. Quand on y verse de l'alcool fort, on précipite de nouveau la matière active sous forme de flocons blancs grisâtres, absolument comme on précipite une diastase de sa solution aqueuse par addition d'alcool. Dans ces manipulations, il y a toujours un peu d'altération et de perte de la substance, et le pouvoir toxique du précipité paraît inférieur à celui du volume de liquide filtré qui l'a fourni.

Lorsqu'on calcine le résidu qui reste après l'épuisement par l'alcool, on obtient toujours une quantité assez notable de cendres. Pour en débarrasser autant que possible la matière toxique et l'avoir à un état de pureté plus grand, nous avons eu recours à la dialyse. L'extrait de 100^{cc} de liquide filtré évaporé dans le vide est épuisé par l'alcool à 80°, puis séché dans le vide pour enlever les vapeurs d'alcool. On le dissout ensuite dans 5^{cc} d'eau et on le verse sur un dyaliseur. Dans le vase extérieur de l'appareil à dyaliser on verse 12^{cc} d'eau que l'on renouvelle toutes les 24 heures[1]. Au commencement de l'expérience, une seule goutte du liquide versé sur le papier-parchemin suffirait à faire mourir un cobaye. Le liquide extérieur, retiré au bout de 24 heures, est injecté sous la peau d'un lapin ; le lendemain on constate un fort œdème au point d'injection, et l'animal meurt le 4e jour avec les lésions que cause le poison diphtérique. Celui-ci a donc passé en partie à travers le papier-parchemin. Toutes les 24 heures, on injecte ainsi à un lapin le liquide du vase extérieur ; le second lapin meurt plus vite que le premier, et le quatrième plus rapidement que le troisième. On arrête l'expérience au 4e jour ; il reste 3^{cc} de liquide sur le dyaliseur, on

1. L'appareil à dialyse a été préalablement stérilisé ; l'eau employée est stérilisée et, pour empêcher le développement de microbes, l'appareil est recouvert d'une cloche sous laquelle on met un petit vase contenant du chloroforme.

en injecte 2/8 de c. c. sous la peau d'un cobaye, qui meurt avec les lésions ordinaires le 4e jour. L'activité toxique du liquide a donc diminué, ce qui doit être, puisque chaque jour il passait à travers la membrane dialysante une quantité de poison suffisante pour tuer un lapin. Le reste du liquide dialysé (2cc et 3/4) est évaporé dans le vide; le résidu pèse 0gr,0015 et ne donne plus à la calcination qu'une quantité de cendres à peine appréciable.

Le poison diphtéritique se dialyse donc lentement, ce qui explique que son action est d'abord locale, ainsi que l'indique la formation de l'œdème ; il ne se répand que peu à peu dans le corps, aussi la même dose agit-elle plus rapidement quand on l'injecte dans le sang que quand on l'introduit sous la peau. On peut donner, par injection sous-cutanée, une quantité de substance active triple de la dose mortelle, sans que la mort survienne plus vite qu'avec une dose simple, parce que la diffusion dans le corps se fait beaucoup moins vite que celle d'une substance cristallisable.

VI

Le poison diphtérique, comme les diastases, a la propriété d'adhérer à certains précipités produits au sein du liquide où il est en dissolution. Le précipité qui entraîne le plus facilement la substance active de la diphtérie est le phosphate de chaux. A une culture filtrée, ajoutons goutte à goutte, et en agitant, une solution de chlorure de calcium, il se forme un précipité qui se rassemble au fond du vase. Si nous avons eu soin de verser une quantité de chlorure de calcium insuffisante pour que la précipitation soit complète, nous pourrons produire dans le liquide clair décanté un second précipité, et puis ensuite un troisième. Il est préférable de faire une précipitation fractionnée, parce que le premier précipité entraîne avec le poison diphtérique quelques-unes des matières contenues dans le bouillon de culture. Toutes ces manipulations doivent être faites avec pureté afin d'éviter l'introduction de microbes étrangers. Si on essaye le pouvoir toxique du liquide après chaque précipitation, on voit qu'il diminue de plus en plus. Au début de l'expérience, 1/5e de centimètre cube, injecté sous la peau d'un cobaye, le faisait périr; après la troisième précipitation, 2cc sont inoffensifs. L'addition de chlorure de calcium a donc dépouillé le liquide d'une grande partie de la substance active, qui se trouve maintenant

rassemblée dans les précipités. Recueillons ceux-ci sur des filtres et lavons-les soigneusement à l'eau distillée stérilisée, puis introduisons sous la peau de cobayes et de lapins une parcelle de chacun des précipités humides, grosse comme un petit pois. Le lendemain les animaux ont un œdème qui grandit peu à peu, ils deviennent tristes et meurent le troisième ou le quatrième jour. En général, le second précipité est le plus actif, le troisième est encore très meurtrier. A l'autopsie on trouve toutes les lésions que cause le poison diphtérique[1], mais dans ce cas elles sont plus intenses que celles qui suivent l'injection du liquide filtré; l'œdème est plus hémorrhagique, les vaisseaux plus dilatés, il semble que le poison, diffusant plus lentement, produise une action locale plus intense. Les grains de phosphate de chaux sont emprisonnés dans un réseau de fibrine mêlé de globules blancs, véritable fausse membrane qui rappelle celle que cause l'injection du microbe lui-même.

En effet, le mode d'action du précipité n'est pas sans analogie avec celui du bacille. De même que le microbe élabore au point d'inoculation le poison qui se diffuse peu à peu, de même le précipité qui retient énergiquement la substance toxique ne la laisse passer que lentement dans les tissus. Au moment de la mort de l'animal, toute la matière active retenue par le phosphate n'est pas dispersée dans le corps; il suffit, en effet, d'enlever avec soin le précipité avec un peu de l'œdème qui l'entoure, et de l'introduire sous la peau d'un second cobaye pour qu'il se développe chez lui l'œdème et les symptômes caractéristiques d'un empoisonnement diphtérique.

Le précipité desséché dans le vide, et inséré sous la peau d'un cobaye ou d'un lapin, agit moins vite que le précipité humide, il est moins soluble dans les liquides acidulés et est sans doute plus difficilement attaqué dans les tissus; il paraît retenir plus énergiquement la substance toxique, l'œdème s'étend plus lentement, mais la mort de l'animal n'en est pas moins sûre. Ce phosphate de chaux sec, chargé de poison diphtérique, conserve plus longtemps ses propriétés actives que le liquide filtré et que le phosphate humide. Il peut être conservé longtemps à l'air, être chauffé à 70°, sans que sa

1. Les cobayes ont aussi de la pleurésie et les lapins de la dégénérescence du foie.

puissance toxique soit diminuée; chauffé à 100° au bain-marie pendant 20 minutes, il tue encore les cobayes. On a ainsi un moyen très commode pour conserver le poison diphtérique. Calciné sur un lame de platine, ce précipité charbonne un peu et répand une odeur légère de corne brûlée; chauffé dans un tube clos, il dégage de l'ammoniaque; traité par l'alcool à 80°, il ne cède presque rien à ce véhicule. L'alcool évaporé ne donne en effet qu'un résidu inappréciable, qui dégage cependant l'odeur agréable dont nous avons parlé plus haut à propos de l'extrait alcoolique.

Le liquide au sein duquel on a fait les précipités de phosphate n'est pas devenu inerte; lorsqu'on en injecte des doses un peu fortes aux lapins ou aux cobayes, ils meurent en quelques jours, ou, s'ils résistent pendant quelque temps, ils ne tardent pas à maigrir et meurent après avoir présenté ces paralysies tardives signalées après les injections de liquides chauffés.

C'est le phosphate de chaux qui nous a paru entraîner le plus facilement le poison diphtérique[1]. Le précipité gélatineux d'alumine, formé par addition de chlorure d'aluminium pur au liquide filtré, le fixe aussi, mais moins complètement, car après cette précipitation le liquide qui surnage est presque aussi toxique qu'avant. Le précipité alumineux soigneusement lavé est cependant capable de donner la mort aux animaux qui le reçoivent, même à faible dose. On peut agiter le liquide actif avec des quantités notables de noir animal sans qu'il perde de son énergie. Il serait très intéressant de trouver une matière insoluble capable de fixer le poison diphtérique beaucoup plus fortement que le phosphate de chaux; on pourrait vraisemblablement l'introduire alors dans le corps des animaux sans produire d'accidents aigus : si la matière toxique adhérait assez au corps insoluble, elle ne diffuserait que lentement, et ainsi se produirait peut-être l'accoutumance graduelle de l'animal.

VII

Est-il possible de nous faire une idée plus précise de la puis-

1. Dans la filtration sur la porcelaine, une partie de la matière est retenue par la bougie poreuse. Il y en a peu d'arrêtée par les filtres durs, cuits à haute température; il y en a davantage avec les filtres tendres, cuits à température plus basse.

sance du poison diphtérique, et de mesurer en poids la dose capable de tuer un cobaye ou un lapin? Ce que nous venons de dire de ce poison fait comprendre qu'il est très difficile de l'isoler à l'état de pureté et que, comme les diastases auxquelles il ressemble par tant de traits, il est toujours accompagné de substances étrangères. Nous allons cependant citer quelques chiffres qui montreront combien est grande son activité. Un centimètre cube de liquide actif évaporé dans le vide donne un centigramme de résidu sec. Si on défalque le poids des cendres et la portion insoluble dans l'alcool, qui n'a aucune action toxique, il reste un poids de quatre dixièmes de milligrammes de matière organique. Il est certain que la majeure partie de ces quatre dixièmes de milligramme sont formés de substances autres que le poison diphtérique. Cette dose si faible est cependant suffisante pour faire périr au moins 8 cobayes de 400 grammes, ou deux lapins de 3 kilos chacun; un chien de 9 kilogrammes qui recevrait ces quatre dixièmes de milligramme dans le sang, s'il ne succombait pas, resterait très malade pendant longtemps.

Deux centigrammes du second précipité humide de phosphate de chaux, introduits sous la peau d'un cobaye, le font mourir en quatre jours. Ces deux centigrammes correspondent à un poids de matière organique inférieur à deux dixièmes de milligramme, et duquel il faudrait encore retrancher le poids des substances inertes que nous ne savons pas éliminer.

Le poison diphtérique, qui est si actif quand il est introduit sous la peau, peut être ingéré en grande quantité par des cobayes et des pigeons sans que ces animaux paraissent en souffrir. Dix centimètres cubes du liquide filtré ont été ingérés par un pigeon sans qu'il témoigne aucun malaise les jours suivants, et cependant 2/5 de centimètre cube du même liquide, injectés sous la peau d'un second pigeon, le faisaient mourir en 60 heures. L'introduction de 1/2 centimètre cube du même liquide dans la trachée des pigeons les tue après 4 ou 5 jours, sans que d'ailleurs on constate aucune lésion des organes respiratoires.

De tout ce qui précède, il nous paraît ressortir que le poison diphtérique a beaucoup d'analogies avec les diastases, son activité est tout à fait comparable à celle de ces substances ou encore à celle des venins. Nous n'entendons pas dire cependant qu'il produit des phénomènes d'hydratation semblables à ceux que

causent les diastases; il n'intervertit point le sucre, ne digère point la fibrine. Si nous le comparons aux diastases, c'est sans préjuger son action chimique, et seulement pour rappeler quelques unes de ses propriétés. Dans le corps des animaux, le poison de la diphtérie nous paraît agir surtout sur les parois des vaisseaux; les dilatations vasculaires, les hémorragies, les œdèmes que l'on trouve à l'autopsie des animaux diphtériques sont à l'appui de cette opinion.

La grande activité du poison diphtérique peut amener à regarder comme très virulentes des cultures de diphtérie qui ne le sont pas. Si l'on injecte par exemple sous la peau d'un cobaye une quantité très faible (1/8 de c.c.) d'une culture ancienne, l'animal succombera, et l'on pourra attribuer sa mort à la virulence des bacilles injectés, tandis qu'en réalité ils sont incapables de pulluler sous la peau des animaux. Ils ne faut donc pas confondre l'action toxique des cultures avec leur virulence. La virulence est l'aptitude d'un microbe à se développer dans le corps d'un animal vivant; cette aptitude est en général augmentée par le passage au travers d'une série d'animaux. La propriété de faire des poisons dans les cultures peut appartenir à des microbes inoffensifs dépourvus de toute virulence.

Il est difficile d'habituer les animaux au poison diphtérique, précisément à cause de son activité. Même à doses très faibles, il produit souvent des effets à longue échéance. C'est à cause de ce pouvoir toxique énergique qu'il faut intervenir dès le début de la formation des fausses membranes chez les diphtériques. Si on a laissé au bacille le temps de former une dose suffisante de poison, c'est en vain que l'on fera disparaître la membrane croupale et qu'on détruira les bacilles, la mort surviendra par empoisonnement; car dans la diphtérie, contrairement à ce qui se passe pour beaucoup d'autres maladies infectieuses, l'infection n'est pas produite par un microbe envahissant les tissus, mais par la diffusion dans l'organisme d'une substance toxique préparée à la surface d'une muqueuse, pour ainsi dire en dehors du corps.

———————

ÉTUDES SUR L'IMMUNITÉ

Par M. EL. METCHNIKOFF.

I. *Immunité des lapins contre le bacille du rouget des porcs.*

L'immunité contre les agents infectieux doit être considérée comme un phénomène compliqué, dépendant à la fois de causes physiques, chimiques et biologiques. Dans quelques cas elle est produite par l'association de ces différents facteurs ; dans d'autres elle ne dépend que de l'un d'eux. Ainsi il est très probable que l'immunité de beaucoup d'animaux à sang froid contre la tuberculose tient uniquement à leur température trop basse pour permettre le développement des bacilles tuberculeux. Comme exemple d'immunité due à une cause purement chimique, je citerais le cas des rats blancs, dont l'état réfractaire contre le charbon est attribué par M. *Behring*[1] uniquement au degré d'alcalinité de leur sang, si l'exactitude de l'interprétation de M. *Behring* ne soulevait pas quelques doutes justifiés. Enfin, parmi les causes biologiques, je mentionnerai l'action cellulaire en général, et notamment le rôle microbicide des phagocytes, qui a été accepté par plusieurs observateurs, et que j'ai tâché de démontrer dans plusieurs cas d'immunité naturelle ou acquise.

Le point le plus difficile dans cette étude est de séparer les différents agents qui peuvent concourir à produire l'immunité. MM. *Hess*[2], *Ribbert*[3], *Petruschky*[4] et moi-même nous avons tâché d'éliminer l'action phagocytaire, soit en introduisant les microbes dans la chambre antérieure de l'œil, soit en les isolant pour un certain temps entre des plaques de verre, soit *surtout* en enfer-

1. *Centralblatt f. klinische Medicin,* 1888, n° 38, p. 681. Voir ces *Annales* 1889, t. I, p. 39.
2. *Archives de Virchow*, 1887, t. CIX, p. 365.
3. *Der Untergang pathogener Schimmelpilze im Korper*, Bonn 1887, p. 52.
4. *Untersuchungen uber die Immunitat des Frosches gegen Milzbrand.* Iena, 1888.

mant les microbes dans des membranes perméables aux corps en solution, et introduites dans l'organisme réfractaire [1]. Bien que ces méthodes aient déjà donné des résultats, il serait bien désirable de trouver d'autres moyens pour isoler les diverses influences jouant un rôle dans la production de l'immunité.

MM. *Emmerich* et *di Mattei* [2], en étudiant l'immunité des lapins contre les bacilles du rouget des porcs, se sont trouvés en drésence de faits qui leur ont paru supprimer toute influence intracellulaire et les ont conduits à nier le rôle phagocytaire des cellules dans la production de l'immunité dans ce cas. Ils ont vu que les bacilles du rouget, injectés dans l'organisme des lapins réfractaires, étaient complètement détruits déjà de 15 à 25 minutes après leur introduction, même si la quantité de culture injectée était très considérable. Ce laps de temps si court met hors de cause l'intervention des phagocytes, qui doivent d'abord s'accumuler autour de la culture injectée, ensuite englober les bacilles et enfin les détruire ; aussi MM. Emmerich et di Mattei attribuent exclusivement la destruction des bacilles du rouget à un liquide antiseptique très actif, accumulé dans les lapins réfractaires. Dans sa communication au Congrès hygiénique de Vienne, M. Emmerich a exprimé l'opinion que ce liquide bactéricide était une sécrétion des bacilles mêmes : produit lors de l'inoculation préventive avec les bacilles du rouget, ce liquide persisterait dans l'organisme des lapins devenus réfractaires, et empêcherait le développement ultérieur des mêmes microbes. Mais dans leur travail complet, MM. Emmerich et di Mattei révoquent cette théorie en la remplaçant par une autre : le liquide antiseptique est pour eux le produit non des bacilles, mais des cellules de l'organisme réfractaire, qui, toutes également, aussitôt après avoir subi l'impression de la part des microbes, sécrètent la substance soluble chargée de les détruire.

Ces savants concluent donc que « les phagocytes n'ont absolument rien à faire avec le mécanisme de l'immunité, qui fonctionne sans leur concours » (*l. c.*, p. 737). A l'appui de cette assertion, MM. Emmerich et di Mattei invoquent le fait que pen-

1. *Archives de Virchow*, 1888, t. CIV, p. 465.

2. Travaux des sections d'hygiène du Congrès de Vienne, 1888. Suppléments des cahiers I-XVIII, XX, XXI, XXIII, p. 152 et *Fortschritte der Medicin*, 1888, t. VI, p. 729.

dant tout le cours de leurs recherches ils n'ont jamais observé ni accumulation des phagocytes, ni englobement des bacilles du rouget par ces cellules. Par contre ils ont constaté que 23 minutes après l'injection de 8cc d'une culture du rouget dans du bouillon, les bacilles se trouvaient libres dans le tissu sous-cutané: mais, après avoir été colorés par la méthode de *Gram*, ils présentaient déjà des signes évidents de destruction.

Il n'est point étonnant qu'une théorie dans laquelle « l'organisme immunisé agit comme une solution de bichlorure de mercure ou de quelqu'autre substance bactéricide des plus fortes » (*l. c.*, p. 738) ait attiré l'attention générale du monde scientifique. Aussi M. *Buchner*[1], dans son récent article sur l'immunité, cite les faits énoncés par MM. Emmerich et Mattei comme une preuve réelle des influences *chimiques* dans l'organisme, influences complètement indépendantes de toute action phagocytaire. M. Buchner semble ne pas remarquer que ces faits portent une atteinte grave à tout l'ensemble de la théorie des phagocytes, à laquelle il est loin d'être opposé. Il se peut bien d'ailleurs que dans tel ou tel cas d'infection, l'immunité soit produite, tout à fait en dehors des phagocytes, par un procédé quelconque, mais il ne faut pas citer le rouget des porcs comme exemple à l'appui : nous allons voir en effet que les bacilles de cette maladie sont généralement englobés par les phagocytes.

Tel est au moins la conclusion de mes études sur la disparition des bacilles du rouget dans l'organisme des lapins réfractaires. Je me suis mis à l'œuvre immédiatement après l'apparition de la première note de M. Emmerich. Mais aussitôt se produisit un obstacle sérieux qui entrava pour un certain temps la marche de mes recherches. Le procédé indiqué par M. Emmerich pour obtenir l'immunité des lapins m'a donné des résultats tout à fait opposés aux siens. L'injection intraveineuse de 1cc de culture du bacille du rouget, au lieu de vacciner les lapins, donnait au contraire une maladie mortelle aux chétifs lapins d'Odessa aussi bien qu'aux robustes lapins français. L'assertion de MM. Emmerich et di Mattei, que « les animaux ainsi inoculés réagissent d'une manière beaucoup plus vigoureuse que contre les inocu-

1. Immunitat und Immunisirung, *Münchener medicinische Wochenschrift*, 1889, nos 2 et 3.

lations sous-cutanées des bacilles du rouget » (*l. c.*, p. 730) est donc inexacte. Les recherches suivies du laboratoire de M. Pasteur ont prouvé que l'introduction des bacilles du rouget dans les veines du lapin donnait beaucoup plus sûrement la maladie que leur injection sous la peau, fait dont j'ai pu me persuader à maintes reprises. Du reste, les protocoles des expériences de MM. Emmerich et di Mattei[1] prouvent que leurs lapins résistaient aux inoculations sous-cutanées aussi bien qu'aux injections intraveineuses. On peut en conclure que leur virus était déjà affaibli, et que leurs lapins s'y montraient dès le début réfractaires. A l'appui de cette conclusion je citerai encore le fait suivant. Dans un travail fait dans le laboratoire de M. Emmerich, M. *Kourloff*[2] dit que les lapins avec lesquels il opérait à Munich étaient réfractaires même à des doses de 15^{cc} de culture des bacilles du rouget. Il s'agissait donc dans toutes ces expériences, non d'une immunité obtenue artificiellement, comme le pensent MM. Emmerich et di Mattei, mais bien d'une immunité naturelle contre un virus affaibli, différence qui ne doit être nullement négligée.

Pour obtenir une immunité sûre des lapins contre le virus fort des bacilles du rouget, je soumettais mes animaux aux inoculations préventives avec les deux vaccins de MM. Pasteur et Thuillier, que j'injectais tantôt sous la peau et tantôt dans les veines des oreilles. Les inoculations deux fois répétées avec le premier vaccin étaient suivies de deux injections du second vaccin. Après la dernière, je faisais encore une injection d'épreuve avec le virus virulent, avant d'entreprendre les expériences définitives.

Comme MM. Emmerich et Mattei disent (p. 745), que la destruction des bacilles du rouget, dans le lapin réfractaire,

1. Dans plusieurs de leurs expériences, MM. Emmerich et di Mattei commençaient par inoculer les bacilles sous la peau, ce qui n'amenait nullement la mort des lapins; dans leur sixième expérience, le lapin a supporté parfaitement une injection sous-cutanée de 3^{cc} d'une culture dans du bouillon (*l. c.*, p. 733).

2. Dans le journal russe *Wratch*, 1888, n° 47, p. 938. Dans ce même travail M. Kourloff rapporte le résultat de ses expériences qui sont en complet désaccord avec les assertions de MM. Emmerich et di Mattei. Tandis que ces auteurs affirment (*l. c.*, p. 734) que les bacilles injectés dans les veines des lapins réfractaires périssent totalement au bout d'une heure, M. Kourloff cite quatre expériences dans lesquelles il a obtenu des cultures avec les organes de lapins réfractaires autopsiés 2 et même 5 heures après l'injection des bacilles dans les veines de l'oreille.

s'opère tout à fait de la même façon, quelle que soit la dose injectée, je n'inoculais dans mes expériences que quelques gouttes de culture des bacilles dans du bouillon; quelquefois je portais la dose à 1cc et très rarement à 2cc. Jamais je n'appliquais les doses énormes employées par les auteurs cités. Ce sont évidemment des conditions favorables à leur thèse, défavorables à la mienne.

Après un temps qui n'a été qu'une fois d'une heure et demie, et qui était le plus souvent de 4, 6, 12, 19, 24 heures et au delà, jusqu'à 6 jours, après l'introduction du virus sous différentes régions de la peau des lapins réfractaires (celle des oreilles, des jambes, du dos et de la tête), je faisais une petite piqûre dans l'endroit inoculé, et j'enlevais à l'aide d'un tube effilé une ou quelques gouttes de liquide. Ce dernier était quelquefois tout à fait transparent, mais le plus souvent il était coloré en rose par le sang, et dans plusieurs cas il n'était composé que de sang presque pur.

Le liquide ainsi obtenu était ensemencé dans du bouillon de veau à 1/2, avec 1 0/0 de peptone, ce qui constitue le meilleur milieu pour la croissance des bacilles du rouget des porcs. Quelquefois, je faisais en outre des cultures dans la gélatine et des préparations étalées sur des lamelles.

Sur 15 expériences ainsi faites, 4 ont abouti à un résultat négatif, en ce sens que le liquide, pris dans l'endroit inoculé 6 heures 45 minutes, 17, 19 et 26 heures après l'inoculation, n'a point donné de culture du bacille dans le bouillon. Dans 11 autres expériences, où le liquide a été puisé 1 heure 1/2, 4, 5, 6, 6 heures 40 minutes, 19, 20, 24 heures et 4 jours après l'introduction du virus, le bouillon ensemencé a donné des cultures pures des bacilles du rouget des porcs (Voir Appendice, tab. I). Plusieurs de ces cultures ont été inoculées à des souris et des pigeons, et se sont toujours montrées d'une virulence normale.

Le résultat est, en somme, diamétralement opposé à celui de MM. Emmerich et di Mattei, et j'ai dû rechercher les causes de la contradiction. Comme il résulte des données fournies par ces savants eux-mêmes que l'immunité de leurs lapins n'était nullement acquise à l'aide d'inoculations préventives, mais que c'était bien une immunité naturelle contre un virus affaibli, j'ai entrepris plusieurs séries d'expériences dans cette même voie.

J'ai inoculé d'abord à deux lapins, qui, après des injections sous-cutanées du virus virulent, s'étaient montrés réfractaires, 1^{cc} du même virus, que j'ai introduit sous la peau des oreilles et du dos. Le liquide, retiré 2 et 6 heures après, a donné des cultures pures des bacilles du rouget. Dans 3 autres expériences avec les mêmes lapins, j'ai obtenu un résultat négatif, en extrayant le liquide 5, 6 et 24 heures après l'inoculation. Comme dans cette série le virus employé était plus fort que celui de MM. Emmerich et di Mattei, j'ai entrepris encore quelques expériences avec les bacilles atténués, mais au lieu de me servir d'un virus affaibli quelconque, j'ai adopté les deux vaccins de MM. Pasteur et Thuillier. Quatre inoculations de quelques gouttes du premier vaccin, faites sous la peau de l'oreille d'un lapin frais et de deux autres qui avaient reçu auparavant le premier et même le second vaccin, ont toutes donné un résultat positif : le liquide, recueilli 4, 19, 20 et 24 heures après l'injection, a produit des bacilles du premier vaccin. Dans 2 expériences avec le second vaccin, inoculé à des lapins qui avaient préalablement reçu les deux vaccins et plusieurs fois le virus virulent, le liquide, pris 19 heures après l'injection, a donné une culture, tandis qu'un autre, recueilli 26 heures après le début de l'expérience, s'est montré stérile (Voir Appendice, n° 3).

Le résultat général des trois séries est donc que sur 28 expériences, 20 fois les bacilles injectés sous la peau des lapins réfractaires se sont maintenus vivants pendant une période de 1 heure 1/2 à 4 jours. On voit bien qu'il ne s'agit pas ici d'une destruction rapide comme dans les expériences de MM. Emmerich et di Mattei, et que l'immunité des lapins contre les bacilles du rouget ne fait pas exception à la règle générale établie pour la destruction d'autres bactéries dans l'organisme des animaux réfractaires.

Voilà donc disparu l'argument qui nous avait conduits à éliminer toute influence phagocytaire dans le mécanisme de la production de l'immunité. Il est clair que les phagocytes ont le temps d'agir, mais nous n'avons pas encore démontré qu'ils agissent. Il fallait donc chercher un moyen pour élucider cette question.

Comme milieu naturel plus ou moins exempt de phagocytes, j'ai choisi la chambre antérieure de l'œil. Si la destruction des

bacilles introduits s'opère à l'aide de liquides, laissés par les microbes eux-mêmes ou sécrétés par les cellules de l'organisme réfractaire, on ne voit pas pourquoi ces substances n'agiraient pas dans la chambre antérieure aussi bien que dans un espace lymphatique quelconque. J'ai fait, sur ce point, dès 1887, une série d'expériences, dont un résultat a été inséré dans mon article sur la *Pasteuria ramosa* [1]. J'ai pu constater que les bacilles du premier vaccin du rouget se conservaient longtemps dans la chambre antérieure de l'œil du lapin, ainsi que les bacilles du rouget virulent dans l'œil de chiens, animaux naturellement réfractaires. MM. Emmerich et di Mattei ont depuis confirmé ce résultat, en ce sens qu'ils ont observé (en collaboration avec M. *Pinto*) que les bacilles de leur rouget virulent se conservaient, dans la chambre antérieure de l'œil des lapins réfractaires, pendant 24 heures et plus longtemps (*l. c.*, p. 743). Comme ces savants n'ont pu constater dans leurs expériences aucune accumulation de phagocytes dans l'œil, ni trouver des bacilles dans l'intérieur de ces cellules, ils cherchent à expliquer la longévité des microbes du rouget dans la chambre antérieure de l'œil par la trop petite quantité de liquide bactéricide sécrété par les cellules de l'iris. Mais si cette dose n'est pas suffisante au début de l'affection, elle devrait l'être encore moins par la suite, de sorte qu'on ne s'explique pas bien, d'après la théorie de MM. Emmerich et di Mattei, pourquoi les bacilles finissent par périr dans l'humeur aqueuse même [2].

Dans quelques-unes de mes expériences, j'injectais une goutte du premier vaccin dans la chambre antérieure de l'œil de lapins qui avaient déjà subi plusieurs injections préalables du virus virulent sous la peau. Ainsi un lapin a reçu sept fois de ce virus avant d'être inoculé par le premier vaccin dans l'œil, ce qui n'a nullement empêché, ainsi que chez les autres lapins, l'accumulation très prononcée des leucocytes dans la chambre antérieure. Une goutte d'humeur aqueuse, retirée 22 heures après l'injection dans l'œil, a donné une culture pure des

1. Voir ces *Annales*, 1888, nº 4.

2. Pour le lecteur qui n'aurait pas sous la main le mémoire de MM. Emmerich et di Mattei, je dois ajouter que, d'après leur théorie, le liquide sécrété par les cellules, s'écoulant avec l'humeur aqueuse de la chambre antérieure, et se résorbant partiellement par l'iris même, se trouvait très affaibli.

bacilles du premier vaccin, tandis qu'une autre, retirée 48 heures après le début de l'expérience, a laissé le bouillon ensemencé dans un état de pureté et de limpidité parfaite (Voir l'Appendice, n° 4).

On voit donc d'abord que le premier vaccin occasionne des troubles marqués dans la chambre antérieure de l'œil des animaux tout à fait réfractaires, et ensuite que les bacilles périssent dans l'espace de 24 à 48 heures après l'inoculation.

En recherchant la cause de cette destruction, j'ai été plus heureux que MM. Emmerich et Pinto, parce que j'ai pu me convaincre facilement que les bacilles du vaccin étaient englobés par les leucocytes immigrés dans la chambre antérieure. Sur chaque préparation du liquide retiré le lendemain de l'opération, et coloré d'après la méthode de Gram, il se trouvait un nombre considérable de leucocytes, dont beaucoup contenaient une quantité variable de bacilles (Pl. V, fig. 13, 14). Quelquefois les cellules en étaient tellement remplies qu'on pouvait à peine distinguer leur noyau. Tandis qu'un grand nombre des bacilles englobés se coloraient comme d'habitude, quelques-uns d'entre eux conservaient mal la coloration primitive (fig. 15), ce qui indiquait leur état dégénéré.

Il n'était donc pas difficile de constater le rôle des phagocytes dans l'affection produite par le premier vaccin du rouget, introduit dans la chambre antérieure. La persistance des bacilles dans l'humeur aqueuse s'explique par l'absence des phagocytes, leur destruction par l'intervention des leucocytes.

La recherche des phénomènes cellulaires consécutifs à l'injection des bacilles du rouget sous la peau présentait beaucoup plus de difficultés. Le liquide, retiré en petite quantité de l'endroit inoculé, fixé sur des lamelles et coloré par différentes méthodes, ne présentait presque jamais de bacilles libres ou englobés par des cellules. Mais ce résultat négatif ne pouvait rien prouver, parce qu'il ne donnait aucune réponse à la question de savoir ce qu'étaient devenus les bacilles introduits. Il fallait donc recourir à un autre moyen ; c'est ce que j'ai fait en appliquant la méthode employée par M. *Hess* dans ses recherches sur la phagocytose. Mais au lieu de me servir des petites chambres de M. *Ziegler*, j'introduisais sous la peau de la cuisse des lapins un système

composé de quatre lamelles réunies avec de la cire à cacheter [1], et tout à fait trempé dans une culture de bacilles du rouget virulent. Après un séjour de 1 à 50 heures sous la peau, les lamelles étaient retirées, isolées les unes des autres et colorées avec le bleu de méthylène, ou, le plus souvent, d'après la méthode de *Gram*.

La pénétration des leucocytes entre les lamelles ainsi introduites sous la peau des lapins réfractaires pouvait être constatée déjà une heure après le début de l'expérience. A côté des grandes masses de bacilles parfaitement colorés se trouvaient un nombre restreint de microphages immigrés, dont quelques-uns contenaient déjà des bacilles qui se coloraient aussi bien que les autres (fig. 1); sur des lamelles retirées 2 heures 1/2 après leur introduction sous la peau d'un lapin qui avait déjà résisté à six injections antérieures du virus, la quantité de leucocytes était très considérable, ainsi que le nombre de bacilles englobés. Dans quelques phagocytes, je pouvais compter de 20 à 28 bacilles, ce qui seul suffit déjà pour démontrer l'inexactitude de l'assertion de MM. Emmerich et di Mattei, « qu'un phagocyte emploie un quart d'heure pour englober un seul bacille » (*l. c.*, p. 736). D'après ce calcul, un leucocyte ne pouvait contenir, 2 heures 1/2 après l'introduction de la culture, que dix bacilles, tandis qu'en réalité il en contenait plus du double. Il est évident qu'un phagocyte peut en même temps englober tout un amas de bacilles au lieu de les avaler un à un, et encore faut-il remarquer que ce délai d'un quart d'heure, fixé par MM. Emmerich et di Mattei, n'est appuyé par aucune preuve réelle.

Les bacilles intracellulaires, dans le cas que je viens de décrire, avaient pour la plupart une coloration ainsi qu'un aspect tout à fait normal (fig. 2, 5), et il n'y avait qu'un très petit nombre de bacilles montrant des signes de dégradation (fig. 3, 6). D'autres bacilles paraissaient présenter la couleur supplémentaire de la vésuvine (fig. 2), mais un examen soigneux démontrait qu'il s'agissait ici de bacilles logés dans la profondeur des leucocytes.

Dans toutes mes expériences avec les lamelles introduites sous la peau, le résultat a toujours été le même, à savoir que les

1. Pour faciliter l'accès des liquides de l'organisme, je laissais entre les lamelles réunies un espace beaucoup plus grand que dans les chambres de MM. *Ziegler* et *Hess*, où il était capillaire.

bacilles injectés étaient, dans une période assez courte, englobés par les leucocytes immigrés, dont le nombre augmentait en raison du temps écoulé.

L'expérience de contrôle, faite avec un lapin non réfractaire, sous la peau duquel j'introduisais les lamelles tout à fait comme chez d'autres, m'a montré que les leucocytes englobaient également un nombre assez considérable de bacilles, ce qui concorde parfaitement avec les faits établis par plusieurs observateurs (*Schütz*, *Schottelius*, *Pampoukis*), que les globules blancs sont le siège favori des bacilles chez les animaux sensibles au rouget des porcs (porcs, pigeons, lapins, etc.).

La différence entre les phénomènes phagocytaires chez les lapins réfractaires et chez les animaux sensibles à la maladie ne se manifestait d'une manière plus ou moins nette qu'après un plus long séjour des bacilles sous la peau. Ainsi, sur les lamelles retirées 50 heures après leur introduction sous la peau d'un lapin réfractaire, la presque totalité des bacilles présentaient des signes indubitables de dégradation (fig. 6, 12) : leurs contours avaient perdu leur netteté habituelle, la coloration primitive ne se conservait qu'imparfaitement, et le contenu des bacilles était devenu granuleux. Plusieurs bacilles, n'étant plus capables de retenir la couleur violette, présentaient la teinte supplémentaire de la vésuvine. Une petite quantité de microbes conservaient cependant leurs propriétés normales, ce qui concorde parfaitement avec le fait que du bouillon, ensemencé avec le liquide retiré des lamelles, donne des cultures pures du bacille du rouget.

On voit donc que dans notre cas la destruction des bacilles, qui n'était pas complète encore 50 heures après l'introduction des lamelles, s'était opérée dans l'intérieur des leucocytes. Je dois ajouter ici qu'un certain nombre de bacilles plus ou moins dégradés se trouvaient aussi, sur des préparations étalées, en dehors des cellules. Mais, comme je l'ai indiqué dans mon travail sur les bactéridies [1], la méthode des préparations desséchées amène inévitablement la rupture de beaucoup de leucocytes, dont une certaine quantité peuvent être aussi détruits par les bacilles englobés à l'état vivant.

1. *Archives de Virchow*, t. CXIV, p. 480-482.

Chez les animaux sensibles au rouget des porcs, et entre autres chez les lapins non réfractaires, le plus grand nombre des bacilles se trouve également englobé dans des phagocytes, mais présente un état tout à fait normal et se colore parfaitement. Ainsi M. *Schütz*[1], en relatant l'autopsie d'un lapin mort du rouget, mentionne la présence des bacilles dans l'intérieur de cellules rondes (Rundzellen) et ajoute que « plusieurs de ces cellules étaient remplies par de telles masses de bacilles qu'à de faibles grossissements elles se présentaient comme des taches fortement colorées ». Pendant mes recherches sur le rouget des animaux sensibles a cette maladie, je n'ai observé que très rarement les bacilles intracellulaires à l'état de dégénérescence. Ainsi j'ai vu, dans un leucocyte mononucléaire (macrophage) du sang d'un pigeon mort du rouget, à côté d'une grande quantité de bacilles fortement colorés, une vacuole (fig. 16, v.) renfermant plusieurs bacilles à peine colorés par le bleu de méthylène, et par suite présentant des signes évidents de dégénérescence.

Dans son mémoire cité sur l'immunité (*l. c.*, p. 18 du tirage à part), M. *Buchner* rapporte ce fait, que dans les expériences de M. *Voit*, les bacilles du rouget périssent même dans le sang des animaux non réfractaires. Ce cas serait donc analogue aux résultats de M. *Nuttall;* mais, comme les deux séries d'observations ne se rapportent qu'au sang retiré de l'organisme, elles ne sont pas en état d'expliquer l'immunité. Du reste, MM. Emmerich et di Mattei ont démontré que le sang même des lapins réfractaires donnait des cultures du bacille du rouget. M. *E. Roux* m'a communiqué que, d'après ses expériences, le sang des lapins est un milieu spécialement favorable à ces bactéries. Je puis ajouter qu'elles végètent bien aussi dans le sang et dans l'urine des lapins tout à fait réfractaires, quand on les ensemence dans ces liquides recueillis peu de temps après que l'animal a supporté des doses considérables des cultures du bacille du rouget.

En résumant tous les faits énoncés dans cet article, je puis conclure d'abord que la présence dans l'organisme réfractaire d'un liquide antiseptique, annoncée par MM. Emmerich et di Mattei, ne s'est point confirmée par mes recherches. La destruction exceptionnellement rapide des bacilles, admise par ces

1. *Arbeiten aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte*, t. I, 1885, p. 61.

auteurs, ne s'est également pas confirmée. D'un autre côté les phagocytes, dont le rôle a été complètement nié par ces deux savants, se sont présentés à moi comme de véritables agents de destruction des bacilles dans l'organisme des lapins réfractaires. Ce fait suffirait à lui seul pour attribuer une importance à ces cellules dans le mécanisme de l'immunité. De plus, si nous considérons que les expériences dans la chambre antérieure de l'œil et les lamelles introduites sous la peau démontrent le rôle prépondérant des cellules migratrices [1], l'importance des phagocytes ressortira avec une évidence plus grande encore.

On a souvent objecté contre la théorie des phagocytes que ces cellules n'étaient capables d'englober que les microbes préalablement tués ou du moins très affaiblis par l'influence extracellulaire des liquides. Dans le cas du rouget des porcs, cette objection ne doit pas être soulevée, parce qu'il est bien établi, même pour les animaux sensibles, que des bacilles très virulents se trouvent ordinairement dans l'intérieur des phagocytes. Seule-

1. M. *Wysokowitch*, dans plusieurs de ses articles et entre autres dans celui qui est publié dans ce numéro des *Annales*, cherche à prouver, d'abord que les leucocytes ne sont pour rien dans la destruction des microbes et ne jouent par conséquent aucun rôle dans l'immunité, et que ce sont les cellules fixes du tissu conjonctif qui accomplissent ces fonctions. Ensuite il prétend que c'est lui qui le premier a attiré l'attention sur le rôle phagocytaire des cellules fixes, et qu'en proposant mes *macrophages*, après la publication du premier article de M. *Wysokowitch*, je n'ai fait autre chose que d'accepter sa théorie. Je me crois obligé de lui répondre en quelques mots. 1° Avant d'être démontré dans cet article, le rôle des leucocytes dans la destruction des microbes et dans le mécanisme de l'immunité a été à maintes reprises constaté par moi-même et par plusieurs autres observateurs (*Ribbert*, *Hess*, *Lubarsch*, *Banti*, *Karg*, etc.).

2° Dans mes articles publiés en 1883 dans le recueil de M. *Claus* et dans le *Biologisches Centralblatt*, et en 1884 dans les *Archives de Virchow*, c'est-à-dire trois et deux ans avant la première publication de M. *Wysokowitch* (printemps 1886), j'insistais déjà sur le rôle phagocytaire des cellules du tissu conjonctif, et j'ai fait la description des grandes cellules phagocytes qui plus tard ont été désignées comme *macrophages*.

3° Ce terme a été créé pour désigner un grand nombre de phagocytes (cellules de la pulpe splénique, endothéliales, du tissu conjonctif et de l'épithélium pulmonaire). Dans mon travail sur la tuberculose (*Archives de Virchow*, juillet 1888), j'ai surtout insisté sur le fait qu'un grand nombre de leucocytes du sang sont également des macrophages, de sorte que « leucocyte et macrophage » ne sont nullement des termes opposés.

4° Si, pendant le cours de mes recherches, je devais modifier mon opinion sur le rôle phagocytaire des différentes cellules, ce serait justement en ce sens que les cellules fixes du tissu conjonctif ne seraient que très rarement phagocytes, tandis que les leucocytes (microphages et macrophages) le sont dans un degré tout à fait prédominant.



El. Metchnikoff del. A. Karmanski lith.

Imp. Lemercier & Cie Paris

ment, chez ces animaux, les bacilles englobés restent pour la plupart intacts, ou détruisent même les cellules englobantes, tandis que chez les lapins réfractaires c'est l'inverse qui a lieu.

Nous avons donc dans le rouget des porcs un exemple d'immunité qui non seulement ne sert pas d'objection contre la théorie des phagocytes, mais qui fournit encore une nouvelle preuve en sa faveur, d'autant plus que dans la tuberculose, affection accompagnée également d'un englobement de bacilles, notoirement intacts, par les phagocytes, on ne connaît pas encore d'immunité acquise à l'aide d'inoculations préventives.

EXPLICATION DES FIGURES.

Toutes les figures ont été faites à l'aide d'une chambre claire de Nachet et à un grossissement obtenu avec l'oculaire 4 et le système à immersion homogène 1/18 de Zeiss.

Fig. 1. — Trois bacilles libres et six englobés par un leucocyte polynucléaire, *a*, un bacille vu en coupe optique transversale. Coloration : Aniline-gentiane et vésuvine. Préparation étalée d'un lapin réfractaire faite une heure après l'introduction du système de lamelles sous la peau.

Fig. 2. — Un leucocyte polynucléaire contenant à peu près 28 bacilles et pris sur une lamelle retirée deux heures après son introduction sous la peau d'un autre lapin réfractaire. Les bacilles colorés en brun se trouvent dans la profondeur de la cellule.

Fig. 3. — Un autre leucocyte polynucléaire de la même préparation, contenant à peu près 20 bacilles, dont un, *b*, présente des signes de destruction.

Fig. 4 et fig. 5. — Deux autres microphages du même lapin avec des bacilles englobés, 2 heures 1/2 après le début de l'expérience.

Fig. 6, 7, 8, 9, 10, 11. — Microphages remplis de bacilles plus ou moins dégénérés du même lapin, sur des préparations faites 50 heures après l'introduction des lamelles sous la peau.

Fig. 12. — Un macrophage de la même expérience.

Fig. 13 et 14. — Leucocytes polynucléaires de la chambre antérieure de l'œil d'un lapin réfractaire, 19 heures après l'injection du premier vaccin.

Fig. 15. — Un autre microphage du même cas avec des bacilles faiblement colorés. La coloration des cellules des figures 2 à 15 est la même que celle de la figure 1.

Fig. 16. — Un leucocyte du sang d'un pigeon mort du rouget. — *v*, vacuole, renfermant des bacilles pâles.

APPENDICE

I. — *Injection de virus sous la peau de lapins réfractaires par vaccination.*

Numéro de l'expérience.	Indication des lapins.	Point d'inoculation.	Temps après lequel on a retiré le liquide.	Résultat de l'ensemencement du liquide.
1	A	Oreille.	4 heures.	+
»	»	Id.	48 heures.	+
»	»	Id.	4 jours.	+
»	»	Id.	6 jours.	—
2	B	Oreille.	20 heures.	+
»	»	Id.	70 heures.	—
3	»	Dos.	4 heures.	+
4	»	Id.	26 heures.	—
5	»	Id.	1 h. 30 m.	+
6	»	Tête.	17 heures.	—
7	»	Jambe.	19 heures.	—
8	C	Jambe.	5 heures.	+
9	»	Oreille.	24 heures.	+
10	»	Dos.	4 heures.	+
11	»	Oreille.	19 heures.	+
12	»	Jambe.	6 heures.	+
13	D	Oreille.	6 h. 40 m.	+
14	E	Oreille.	6 h. 45 m.	—
15	»	Oreille.	5 heures.	+

II. — *Injection du virus sous la peau de lapins naturellement réfractaires.*

16	F	Oreille.	24 heures.	—
17	»	Jambe.	5 heures.	—
18	»	Oreille.	6 heures.	+
19	G	Jambe.	6 heures.	
20	»	Oreille.	6 heures.	+
21	»	Dos.	2 heures.	+

III. — *Injection sous la peau du premier vaccin du rouget.*

22	Lapin frais	Oreille.	20 heures.	+
23	A, après des doses de 1er et 2me vaccin.	Id.	4 heures.	+
24	Id.	Id.	19 heures.	+
25	B, après une dose de 2me vaccin.	Id.	24 heures.	+
26	B, après 2 doses du 1er vaccin, 2 du 2me, et 4 du virus.	Id.	19 heures.	+
27	C, après 3 doses du 1er vaccin, 1 du 2me, et 5 du virus.	Dos.	26 heures.	—

IV. — *Injection dans la chambre antérieure de l'œil.*

N° de l'expérience.	Indication des animaux.	Qualité de la culture injectée.	Temps après lequel le liquide a été retiré de l'œil.	Résultat de l'ensemencement de ce liquide.
28	Chien.	Virus virulent.	4 heures.	+
29	Chien.	Virus virulent.	23 heures.	+
30	Chien.	Virus virulent.	32 heures.	+
31	Lapin H	1er vaccin.	20 heures.	+
32	» J	1er vaccin.	43 heures.	+
33	» K	1er vaccin.	55 heures.	+
34	Lapin E après 2 doses du 1er vaccin, 2 du 2e, 3 du virus.	1er vaccin.	22 heures.	+
35	Lapin F après 7 doses de virus.	1er vaccin.	22 heures.	+
	Id.		48 heures.	—

M. *E. Roux* a eu l'obligeance de faire, sur ma demande, une expérience de contrôle, et a injecté sous la peau de la cuisse d'un lapin réfractaire quelques gouttes du sang d'un pigeon mort du rouget, diluées avec de l'eau. Le liquide retiré de l'endroit inoculé, 6 heures après l'injection, a donné une culture pure du bacille du rouget.

RECHERCHES SUR L'AMYLASE DE L'URINE

Par E. DUBOURG.

M. Béchamp a le premier signalé la présence, dans l'urine, d'une diastase capable de saccharifier l'amidon, à laquelle il donna le nom de *néfrozymase*, voulant indiquer par là sa fonction de diastase et son origine rénale [1]. Mais, lorsqu'il aborda cette étude, on savait bien peu de chose des transformations subies par l'amidon sous l'influence des amylases; c'est ce qui peut expliquer pourquoi M. Béchamp rechercha seulement les variations de sa diastase sous diverses influences, le sexe, l'âge, le régime, et enfin dans divers cas pathologiques, sans se préoccuper de son rôle physiologique.

Depuis, on a découvert et beaucoup étudié la pepsine contenue dans l'urine, mais on ne s'est guère occupé de l'amylase [2], et j'ai repris ce sujet, dans l'espoir de contribuer à la solution des problèmes encore si obscurs touchant les transformations provoquées par les diastases de l'organisme.

Une étude préliminaire m'a permis d'établir les meilleures conditions d'expérience.

Pour me mettre à l'abri des invasions microbiennes, je stérilise les liqueurs avec 1/1000 de thymol. Cette dose, très suffisante comme antiseptique, ne gêne pas l'action de l'amylase.

J'emploie directement l'urine et non point la diastase précipitée par l'alcool, parce qu'elle se trouve affaiblie par ce traitement. Pour savoir ce que l'urine en contient, comme il est impossible de la doser directement, puisqu'on ne la connaît pas à l'état pur, je l'évalue par la quantité de produits qu'elle forme

1. A. Béchamp, Sur la néfrozymase, matière albuminoïde ferment de l'urine. *Montpellier médical*, 1865.

2. Voir pourtant Hoffmann dans *Pfluger's Archiv*, t. XLI.

quand on se place toujours dans les mêmes conditions expérimentales pour la faire agir sur l'amidon, et qu'on observe d'ailleurs les précautions recommandées par M. Kjeldahl, dans son étude sur la diastase du malt.

Dans mes expériences, j'ai fait la saccharification à la température de 50°, avec un empois à 5 0/0 thymolisé, et j'ai dosé le sucre réducteur formé après un temps constant de séjour à cette température.

I

Comme l'avait observé M. Béchamp, lorsqu'on ajoute une certaine quantité d'urine à de l'empois d'amidon, on constate toujours la formation de sucre réducteur, et cette transformation de l'empois est bien due à une amylase, car la même urine préalablement portée à 100° perd cette propriété de saccharifier l'amidon.

Mais les quantités de sucre réducteur formées ne sont jamais grandes ; en diluant l'urine, il arrive même qu'on peut ne constater que la formation de dextrines, sans apparition de sucre réducteur, même après 24 heures de contact à la température de 50°. Des faits de même nature ont été observés par Payen avec la diastase du malt diluée.

On peut cependant, avec l'amylase de l'urine, transformer *complètement* en sucre réducteur une quantité notable d'empois d'amidon. Il suffit pour cela d'ajouter de la diastase nouvelle à intervalles rapprochés. Afin d'éviter la dilution des liquides, il faut ici que l'amylase ait été préalablement précipitée. Il est facile de s'assurer que tout l'empois a été transformé en sucre réducteur, en ajoutant à la liqueur une levure pure éprouvée déjà comme incapable de faire fermenter les dextrines [1]. On voit que toutes les matières ayant un pouvoir rotatoire disparaissent complètement par la fermentation.

J'ai pu d'ailleurs parvenir au même résultat avec l'amylase du malt, et démontrer qu'il n'y a pas d'achroodextrines inattaquables par les amylases. Nous avions déjà démontré, M. Gayon et moi[2], que les hydrates de carbone du moût de bière, jusque-là

1. Avant d'ensemencer la levure, j'ai débarrassé les liqueurs du thymol au moyen d'un traitement à l'acétate de plomb, et l'excès de ce métal a été séparé par un courant d'hydrogène sulfuré qu'un courant d'air pur a enlevé ensuite.

2. Fermentation de la dextrine et de l'amidon par les mucors. Ces *Annales*, 1887.

réputés non fermentescibles, disparaissaient dans la fermentation par les *mucors;* il n'est donc pas nécessaire d'attribuer à ces moisissures une fonction spéciale, l'amylase ordinaire, aidée d'une levure pure, pouvant produire le même phénomène.

L'amylase de l'urine et celle du malt transforment aussi complètement l'empois d'amidon en sucre réducteur, et très rapidement, lorsqu'on fait disparaître le sucre, à mesure qu'il se forme, avec une levure alcoolique.

D'autre part, l'amylase de l'urine saccharifie aussi bien l'amidon cru que l'amidon cuit, mais avec moins d'activité cependant; à l'encontre de la diastase du malt, elle attaque également la fécule de pomme de terre crue.

Enfin, pour en finir avec le rôle de la diastase de l'urine, je dirai qu'elle pousse la transformation de la matière féculente jusqu'au terme glucose. Cette propriété n'appartient pas à l'amylase du malt. De Mering[1] pensait que cette dernière transformait le maltose à la longue, mais M. Bourquelot n'a pas obtenu d'hydratation après 24 heures[2], et. dans une expérience qui a duré vingt jours, je n'ai pas eu trace de transformation du maltose. M. le Dr Effront[3] a trouvé du glucose dans des liqueurs traitées par l'amylase du malt, surtout lorsque l'extrait de malt est introduit sans être clarifié; si M. Effront avait examiné ses liquides au microscope, il les aurait vus peuplés de microbes et aurait eu l'explication toute naturelle de cette apparente anomalie.

Dans l'étude de la transformation du maltose, j'ai adopté les méthodes employées par M. Bourquelot et par M. Gayon et moi.

Lorsqu'on met une solution de maltose cristallisé en présence de l'urine, on observe toujours, après un certain temps, une diminution du pouvoir rotatoire de la liqueur et une augmentation du pouvoir réducteur. Il y a donc bien eu hydratation du maltose. Avec l'urine préalablement chauffée, on ne remarque aucune modification, ce qui prouve que la transformation du maltose est provoquée par l'amylase.

1. De Mering, Ueber den Einfluss diastatischer Fermente auf Starke, Dextrine and Maltose. *Zeitschr. r. f. phys. Chem.*, 1881.

2. G. Bourquelot, Recherches sur les propriétés physiologiques du maltose. *Journal de l'Anatomie et de la Physiologie*, 1886.

3. J. Effront, Contribution à l'étude des produits de la saccharification de l'amidon. *Moniteur scientifique*, mai 1887.

Mais les proportions du maltose hydraté sont toujours faibles. Cela ne saurait surprendre, puisque la diastase est en très faible quantité dans l'urine et qu'on sait, d'autre part, que les produits de saccharification de l'amidon offrent d'autant plus de résistance aux amylases qu'ils approchent plus près du dernier terme de la réaction. C'est ainsi qu'on a démontré que si on sépare les produits dextriniformes à des temps variés, pendant une expérience, pour les mettre en contact avec une amylase fraîchement préparée, leur résistance va en augmentant. Musculus pensait même que les dernières achroodextrines étaient inattaquables.

Pour expliquer ces faibles transformations, nous devons encore faire intervenir ici les produits de la réaction, qui sont une cause de gène, on le sait; et enfin il reste l'influence des agents physiques, tels par exemple que l'air, la lumière, etc.

Dans l'organisme, les diastases sont soustraites à toutes ces influences nocives; c'est toujours de la diastase fraîchement sécrétée qui agit; les produits de la réaction sont éliminés à mesure de leur production; en un mot, les conditions sont telles que les transformations doivent attendre leur maximum.

II

Le rôle de l'amylase de l'urine étant établi, j'étudierai maintenant les conditions physico-chimiques et physiologiques de son action.

a. — D'une manière générale elle est soumise aux mêmes conditions physico-chimiques que l'amylase de malt. Le temps, la température produisent des phénomènes absolument comparables.

J'ai pourtant à signaler une particularité intéressante. Si on chauffe à 50°, pendant un certain temps (1, 2, 3 jours), une solution d'amylase, qu'on fait agir ensuite sur de l'empois d'amidon, on trouve qu'elle est moins active qu'une même solution non chauffée au préalable.

M. Kjeldahl avait observé le même fait pour l'amylase du malt, mais à des températures supérieures à 60°. La durée de ses expériences n'a pas dépassé 2 heures. S'il avait prolongé ses essais, il est vraisemblable qu'il aurait obtenu des résultats

pareils aux miens, car je les ai retrouvés avec l'amylase du malt aussi bien qu'avec l'amylase de l'urine.

Je conclus de mon observation que si les produits de transformation de l'amidon, par les amylases, n'augmentent que lentement, lorsque l'expérience se prolonge, un des facteurs qui concourent à ce ralentissement est sans nul doute la température, même lorsque l'expérience se poursuit à celle qui est considérée ordinairement comme la meilleure.

Je me suis assuré d'ailleurs que le phénomène était bien produit par la température, à l'exclusion de l'oxygène de l'air : la même urine qui m'avait servi a été soumise pendant 5 jours à un courant d'air *pur* très actif, au moyen d'une trompe, à la température ordinaire, et les proportions de sucre réducteur qu'elle a fournies, toutes choses égales d'ailleurs, étaient sensiblement les mêmes que celles de l'urine dans une fiole complètement remplie. Cela ne saurait surprendre, car on sait que l'oxygène agit surtout sur les liqueurs alcalines; or mon urine, acide, était seulement neutralisée au moment du mélange avec l'empois.

b. — J'ai étudié l'influence d'un grand nombre de composés chimiques : acides, bases, sels acides et sels neutres, alcaloïdes, alcools, essences, etc., et de tous mes nombreux essais il se dégage ceci :

Les acides minéraux et organiques, les bases, les sels acides, les sels de métaux lourds enrayent complètement l'action de l'amylase, à part de très rares exceptions.

Les antiseptiques ordinaires ont une action retardatrice très variable ; le sublimé paralyse complètement l'action de la diastase à la dose de 1/2000e.

c. — En recherchant l'influence de l'âge et du sexe sur la sécrétion de l'amylase de l'urine, j'ai constaté comme conclusion générale, dans près de 200 essais, que la diastase est en proportion plus considérable dans l'urine de l'homme que dans celle de la femme et de l'enfant ; j'ai observé, en outre, que les vieillards éliminent plus d'amylase que les adultes, et, enfin, que toutes les causes d'affaiblissement provoquent d'ordinaire une hypersécrétion d'amylase.

Mais toutes ces constatations ne peuvent avoir qu'une valeur relative. Nous allons voir en effet l'élimination de l'amylase soumise à l'influence d'un facteur très important : le régime

alimentaire. On comprend dès lors que les expériences faites avec l'urine d'individus soumis à des régimes variés et non comparables ne peuvent fournir que des indications générales et approximatives.

d. — Dans son étude du mécanisme de la sécrétion des diastases en général, M. Duclaux a démontré la part considérable apportée par l'aliment dans la sécrétion des diastases de l'*aspergillus glaucus*, du *penicillium glaucum*, etc.

Mes expériences avec l'amylase de l'urine confirment d'une manière remarquable les conclusions de M. Duclaux.

Les carnivores et les herbivores n'éliminent que des quantités très faibles d'amylase, et les animaux soumis à un régime amylacé en excrètent au contraire de notables proportions.

Dans une expérience faite avec un lapin à qui j'ai administré, par périodes assez longues pour bien asseoir l'effet de chaque mode d'alimentation, des aliments variés et définis, j'ai pu suivre les fluctuations de l'amylase, en calculant, chaque jour, la quantité de sucre réducteur formé par l'urine de 24 heures recueillie soigneusement. Tandis que le maximum obtenu sous l'influence du régime *herbacé* s'est trouvé de 12 grammes, je l'ai vu s'élever à 40 grammes avec un régime amylacé. Après 10 jours, on ne trouve plus que des traces d'amylase dans l'urine d'animaux soumis à un régime exclusivement herbacé.

Contrairement à l'opinion de M. Béchamp, on observe des faits de même nature avec un régime exclusivement animalisé.

J'ai obtenu, sur moi-même, une moyenne de 258 grammes de sucre réducteur formé par l'urine de 24 heures, avec le régime amylacé exclusif, tandis que la moyenne du régime animalisé a été seulement de 180 grammes ; et il faut remarquer que l'expérience, dans chacun des cas, n'a duré que 3 jours.

L'élimination de l'urée ne suit pas la même marche que celle de l'amylase. Elle augmente en effet sous l'influence de l'alimentation animalisée et diminue avec le régime amylacé. Avec un régime mixte les courbes des deux éléments sont à peu près identiques, et cela s'explique par la compensation qui s'établit dans la sécrétion des deux éléments.

Si l'on recherche enfin le moment de la journée où l'amylase est en plus grande quantité, on trouve, en général, que c'est dans l'urine de la nuit et dans celle de l'après-midi, nouvelle

preuve de l'influence du régime alimentaire. M. Sahli a consigné les mêmes résultats dans son étude de la diastase digestive de l'urine[1], mais sans pouvoir en fixer les raisons. L'explication devient des plus simple après les observations qui précèdent.

III

Maintenant que nous connaissons le rôle physiologique de l'amylase de l'urine et ses conditions d'action. il nous reste encore à rechercher son origine.

a. — M. Béchamp pensait que la *néfrozymase* était sécrétée par le rein ; il n'apporta, il est vrai, aucune preuve à l'appui de ses affirmations ; mais, dans son livre sur les Microzymas, il invoque une expérience de J. Béchamp et E. Baltus qui ont trouvé de la *néfrozymase* dans les uretères d'un chien. Cela pouvait démontrer que la diastase ne se forme pas dans la vessie, mais cela ne prouvait point qu'elle fût sécrétée par le rein.

Les observations qui suivent montreront, je crois, que le rein est aussi étranger à la formation de l'amylase de l'urine qu'à la formation de l'urée.

J'ai comparé tout d'abord les puissances saccharifiantes de l'urine et du rein d'un même animal. Il y a toujours plus d'amylase dans une faible quantité d'urine que dans un rein entier.

Si l'on recueille avec soin l'urine émise par un lapin dans les 24 heures, on trouve chaque fois plus d'amylase que dans le rein entier ; dans certains cas, j'ai vu que l'amylase était en proportion dix fois plus élevée.

Et si l'on soumet un lapin à un régime herbacé pendant une période assez longue, on trouvera encore de l'amylase dans l'urine, et on n'en trouvera que des traces dans le rein.

Quand on étudie l'influence de l'alimentation, on remarque qu'avec un régime herbacé ou animalisé le volume d'urine émise dans les 24 heures est beaucoup plus considérable qu'avec l'alimentation amylacée ; cependant les proportions d'amylase ont diminué considérablement alors que l'urine a augmenté. Si le rein était le siège de la sécrétion de la diastase, il paraît

1. W. Sahli. *Archiv. für die Gesammte Physiologie*, t. XXVI.

probable que plus la trame de son tissu serait traversée par des volumes croissants d'urine, et plus on devrait trouver d'amylase dans le liquide. C'est le contraire qui arrive.

Enfin les variations observées sous l'influence du régime alimentaire deviennent bien difficiles à expliquer, si on admet la sécrétion par le rein.

b. — Si l'amylase de l'urine n'est pas sécrétée par le rein, encore faut-il pouvoir démontrer que cette *matière albuminoïde* est susceptible de traverser l'organe.

Il n'y a rien d'impossible à cela, *a priori*, puisque les diastases sont dyalisables. On sait, en effet, que la sucrase sécrétée par la levure de bière traverse la membrane de la cellule, et il en est de même de toutes les diastases sécrétées par les moisissures. Nous avons pu, M. Gayon et moi[1], provoquer chez les levures et les moisissures, une hypersécrétion considérable de diastases entraînant avec elles des matières albuminoïdes coagulables. Les champignons n'étaient cependant pas tués par les traitements auxquels nous les avions soumis. Or, ces expériences se rapprochent beaucoup plus des conditions naturelles, au point de vue de la perméabilité des membranes cellulaires de l'organisme, que les essais qu'on peut faire, dans les laboratoires, avec les diverses membranes artificielles.

Je me suis assuré, d'ailleurs, par une expérience directe, que l'amylase de l'urine se dyalise à travers une membrane de parchemin.

Il est facile, d'autre part, de démontrer que les diastases sont susceptibles de traverser le rein; pour cela, il suffit d'injecter une diastase déterminée dans le système veineux : on la retrouve dans l'urine.

Pour faire ces expériences, j'ai choisi de préférence la sucrase, parce qu'elle n'existe ni dans le rein, ni dans l'urine, à l'état normal du moins, comme je m'en suis assuré directement. Je dois ajouter que M. Béchamp avait constaté son absence dans l'urine.

Une solution de sucrase a été injectée dans la veine fémorale d'un lapin; une heure après, j'ai constaté sa présence dans l'urine. En ajoutant du saccharose à l'urine, il s'est formé, en

1. Gayon et Dubourg. Sur la sécrétion anormale des matières azotées des levures et des moisissures. *Comptes rendus*, avril 1886.

très peu de temps, des quantités importantes de sucre réducteur. Cette transformation chimique du saccharose était bien due à la sucrase, car une partie de la même urine, préalablement portée à 100°, et additionnée de saccharose après refroidissement, ne transformait pas le sucre même après 24 heures.

Si après avoir injecté une certaine quantité de sucrase dans le sang, on sacrifie l'animal environ une heure après, on trouve toujours de la sucrase dans l'urine de la vessie, mais une proportion plus notable s'est déjà localisée dans le rein. Cette observation permet d'expliquer pourquoi le rein contient ordinairement une fraction sensible de l'amylase de l'urine, et concourt ainsi à démontrer la non sécrétion de la diastase par cet organe.

c. — Puisque le rein n'est pas le siège de la formation de l'amylase, il reste enfin à rechercher la véritable origine de cette diastase.

J'étudierai pour cela l'amylase du sang, et, si je démontre qu'elle possède les mêmes propriétés physiologiques que celle de l'urine, que ses variations sont soumises aux mêmes influences, il me sera sans doute permis de les faire dériver l'une de l'autre. J'irai plus loin : étudiant la diastase du foie, je prouverai que pareille à celle du sang et de l'urine, elle a un rôle et une fonction semblables et qu'elle obéit aux mêmes lois.

L'*amylase du sang*, reconnue par Magendie et Claude Bernard, saccharifie l'empois d'amidon, et, comme l'amylase de l'urine, elle pousse l'hydratation de la matière féculente jusqu'au glucose.

L'*amylase du foie* possède exactement les mêmes propriétés physiologiques.

Dans un travail récent[1], M. Dastre conclut à la non existence d'une diastase isolable, séparable, dans le foie. Cependant, comme il a observé la formation de sucre réducteur, le savant expérimentateur attribue le phénomène à l'activité vitale des cellules hépatiques.

M. Dastre, il est vrai, expérimente à la température de 0°; or, comme l'amylase est en très faible quantité dans le foie, on ne saurait être surpris des résultats négatifs obtenus dans les conditions où il opère.

1. Dastre, Physiologie du Foie. Recherches sur les ferments hépatiques. *Archives de Physiologie normale et pathologique*, 1888.

J'ai fait mes essais avec des foies hydrotomisés, selon le procédé indiqué par M. Dastre lui-même ; j'ai même poussé quelquefois les lavages plus loin, et jamais je n'ai pu débarrasser complètement cet organe de l'amylase. Mais au lieu de porter le mélange d'empois et de foie à la glacière, j'expérimentais à 50°, après addition de 1/500e de thymol, les liquides étant ici plus susceptibles d'altération.

J'ai eu l'occasion de prendre deux parties d'un même foie. L'une était portée à la glacière après addition d'empois, l'autre à 50° ; cette dernière seulement me donnait du sucre réducteur.

Avec les foies longuement lavés, on obtient quelquefois des traces seulement de sucre, tandis que si l'on a soin, quand le lavage est commencé depuis quelques minutes, de détacher un des lobes, on y trouve souvent, toutes choses égales d'ailleurs, dix fois plus de sucre réducteur que dans un poids égal de l'organe lavé.

On se trouve, dès lors, en présence de deux hypothèses : ou bien l'amylase est sécrétée par les cellules du foie, ou elle est apportée par le sang.

La diminution de la diastase, sous l'influence du lavage. n'implique pas en effet sa présence exclusive dans le sang. Puisqu'elle est dyalisable, elle peut être entraînée par l'eau et traverser les membranes cellulaires, car il se produit évidemment des phénomènes d'osmose pendant le lavage.

Cependant, il est beaucoup plus probable que l'amylase du foie provient du sang; j'appuie cette opinion sur les faibles quantités de diastase qu'on trouve ordinairement dans cet organe même non lavé, mais aussi, et surtout, sur les variations que nous verrons se produire sous l'influence du régime alimentaire.

En ce qui concerne son rôle physiologique, peu importe que l'amylase soit sécrétée par les cellules hépatiques ou apportée par le sang; dans ce dernier cas, rien n'empêche d'admettre que les échanges osmotiques continuels, qui s'opèrent entre le sang des capillaires et les liquides des tissus dont il parcourt la trame, doivent permettre à la diastase de traverser les membranes et de se trouver en présence du glycogène localisé dans le foie.

Comme l'avait vu Claude Bernard, le foie contient donc

une amylase, et cette amylase transforme la matière féculente en glucose.

Mais les deux amylases du sang et du foie varient avec le régime alimentaire comme l'amylase de l'urine.

Avec le régime herbacé, prolongé un certain temps, on peut arriver à faire disparaître à peu près complètement l'amylase du sang et du foie, comme nous l'avons vue disparaître du rein.

Voici une expérience faite avec les organes de 2 lapins, soumis depuis huit jours au régime indiqué. J'ai ajouté le rein et l'urine, afin que la comparaison fût complète.

Les chiffres indiquent les quantités de sucre réducteur après 24 heures d'étuve à 50°.

	Lapin n° 1	Lapin n° 2
	Régime amylacé.	Régime végétal (herbacé).
Sang.	1 gr. 05	0 gr. 62
Foie non lavé	1 gr. 32	traces.
Foie lavé . .	0 gr. 12	traces.
Rein.	1 gr. 93	traces.
Urine	1 gr. 15	0 gr. 37

Les essais ont été faits avec 10 cc de sang, 10 grammes de foie, un rein entier, 10cc d'urine.

J'ai trouvé dans la vessie du premier lapin 70cc d'urine. Ce volume aurait donné, dans les mêmes conditions, 12 gr. 25 de sucre réducteur; l'urine trouvée dans la vessie du second (45cc) eût fourni seulement 1 gr. 67.

Cette expérience montre bien que l'alimentation n'influe pas seulement sur l'amylase de l'urine, la sécrétion de la diastase du foie, du sang est également atteinte.

Si, réunissant tous les faits qui précèdent, et se reportant aux expériences très précises de M. Bourquelot concernant les amylases du pancréas et de l'intestin, on remarque que toutes ces diastases ont les mêmes propriétés physiologiques, il sera permis de se demander si elles n'ont pas la même origine : les viscères abdominaux.

Mais des expériences qui précèdent se dégage aussi une nouvelle conclusion; puisque toutes ces amylases poussent l'hydratation de la matière féculente jusqu'au glucose, elles expliquent la nature du sucre du diabète.

On trouve en effet constamment du glucose seul dans l'urine des diabétiques. J'ai eu l'occasion d'examiner un nombre considérable de ces urines, et jamais je n'y ai trouvé de maltose.

Lorsqu'on fait agir des urines de diabétique sur l'empois d'amidon ou sur des solutions de maltose, on remarque que les transformations sont ordinairement faibles, et d'autant moins sensibles que le diabète présente un caractère plus grave. On pourrait sans doute trouver une explication à ces anomalies apparentes, mais ceci est en dehors du cadre de mon travail actuel.

Quant à la nature du sucre contenu dans le sang, il semble qu'il soit plus malaisé de se prononcer. C'est probablement du glucose, mais rien n'empêche de supposer qu'il puisse y avoir un mélange des deux sucres, comme l'ont affirmé Musculus et de Méring.

Quelques expériences tentées dans le but d'élucider le problème n'ont pu me fournir que des résultats douteux. Si on provoque la glycosurie chez divers animaux, au moyen d'injections de glucose, on trouve toujours du glucose seul dans l'urine. Je l'ai observé dans 4 expériences.

Le diabète expérimental obtenu avec la phlorizine conduit aux mêmes résultats, comme l'ont observé récemment MM. Germain Sée et Gley [1].

Une seule fois, j'ai obtenu un résultat douteux : j'avais injecté à un lapin de l'eau de levure, pour me rendre compte du passage de la sucrase à travers le rein; l'animal eut une glycosurie passagère, et la rotation et la réduction de la matière sucrée, calculée en glucose, me fournirent des résultats assez sensiblement discordants. Malheureusement, il m'a été impossible de provoquer de nouveau la glycosurie avec l'eau de levure.

D'ailleurs, tant qu'on n'aura pas pu parvenir à isoler le sucre du sang, il restera un doute à ce sujet. MM. Dastre et Bourquelot, en opérant avec 5 litres de sang, ont obtenu une matière réductrice qui, d'après eux, aurait pu être transformée en glucose, par suite des manipulations subies par les liqueurs, dans le cas où il y aurait eu du maltose. J'ai moi-même fait un essai avec 20 litres de sérum de sang de bœuf; j'ai obtenu une matière

1. Germain Sée et Gley. *Comptes rendus*, février 1889.

réductrice très dosable, puisqu'elle correspondait à 6 gr. 80 par litre, calculée en glucose; mais, chose singulière, j'avais en même temps une légère rotation gauche que ni la chaleur ni les acides n'ont pu faire disparaître. Je l'ai attribuée à une matière albuminoïde.

Il reste donc là une lacune, que des difficultés expérimentales particulières rendent très difficile à combler.

En résumé, la néfrozymase de M. Béchamp est une amylase poussant l'hydratation de l'amidon jusqu'au glucose, et ce caractère la distingue de l'amylase de l'orge germé. L'étude des conditions physiologiques de l'action de cette diastase m'a permis de confirmer les expériences de M. Duclaux, concernant le mécanisme de la sécrétion des diastases.

Enfin, si l'on rapproche les diverses propriétés de l'amylase de l'urine de celles des autres amylases de l'organisme, on est conduit à leur attribuer une origine commune : les viscères abdominaux.

Si l'on admet, avec M. Duclaux[1], que dans l'acte de la digestion intestinale, la part des diastases sécrétées par les microorganismes est au moins comparable, pour sa puissance, à celle des diastases provenant des liquides normaux de l'organisme, on peut se rendre compte, d'après les recherches qui viennent d'être exposées, du rôle considérable joué par les microbes dans les phénomènes généraux de la nutrition.

Ce travail a été fait sous la direction de mon savant maître M. Gayon; je suis heureux de pouvoir le remercier publiquement de ses utiles et affectueux conseils.

1. Duclaux, Recherches sur la digestion. *Comptes rendus*, 1882. *Microbiologie*, page 804.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR L'ACTION ANTISEPTIQUE DES ESSENCES,

Par MM. CADÉAC et ALBIN MEUNIER.

Depuis qu'on a montré avec tant d'évidence quel rôle important les micro-organismes jouent dans la production et la dissémination des maladies, comme dans la décomposition des substances organiques, les expérimentateurs ont cherché quelles substances tuent les différents microbes ou empêchent leur évolution, sans toutefois altérer les cellules du malade et modifier profondément la structure des tissus. Beaucoup d'agents chimiques ont été étudiés : l'acide phénique, le sublimé corrosif, l'acide borique, le sulfate de cuivre, l'iodoforme, etc., et maintenant on peut dire que, grâce à ces microbicides, toutes les audaces sont permises aux chirurgiens, puisqu'elles sont le plus souvent couronnées de succès.

A la suite de ces découvertes, la thérapeutique médicale a voulu, elle aussi, utiliser les microbicides et les antiseptiques. Mais les résultats obtenus ont été peu saillants, soit en raison du peu de solubilité ou de diffusion dans l'organisme des produits employés, soit à cause de leurs propriétés toxiques ou caustiques. On peut donc dire que l'antisepsie médicale est toute à faire.

Le but idéal à atteindre serait de trouver un spécifique comparable au sulfate de quinine contre l'intoxication palustre, et au mercure contre la syphilis. Dès lors, la recherche de nouveaux microbicides nous a tentés, et il nous a paru intéressant à ce point de vue d'étudier les antiseptiques employés autrefois en chirurgie et en médecine chez les Égyptiens, les Grecs et les Romains, d'en déterminer, avec les méthodes nouvelles, les propriétés spéciales contre les divers microbes pathogènes, et de les comparer avec les substances antiseptiques les plus usitées de nos jours.

L'examen des momies prouve suffisamment que les Égyptiens ont connu des antiseptiques très énergiques. Ainsi Czermack,

en faisant des recherches anatomiques sur deux momies qui avaient plus de 3,000 ans, les trouva si bien conservées qu'il put reconnaître au microscope des fragments d'intestin. Or, tous les procédés employés par les Égyptiens pour embaumer les corps se résument dans le suivant : introduction dans le corps de poudres aromatiques, de baume, de résines aromatiques et d'essences pures ; puis immersion dans l'eau salée, et application sur le corps de bandelettes trempées dans des résines saturées d'essences. Ce sont donc les essences qui ont conservé les momies. D'ailleurs, Hunter est arrivé à embaumer des corps et à leur donner l'apparence de momies en injectant dans les artères et dans les viscères une solution de térébenthine de Venise dans des essences de lavande, de romarin, de camomille et de térébenthine. Les huiles, les vins aromatiques, les onguents faits avec des oléo-résines à essences, en un mot, les mêmes produits qu'on employait en Égypte pour embaumer les corps, constituent la base des différents pansements dont usaient les médecins de l'antiquité et ceux qui les premiers se sont occupés de chirurgie, depuis Hippocrate, Celse, Galien, Actius, Paul d'Égine, jusqu'à Ambroise Paré et Fabrice d'Aquapendente.

Passons-nous de la chirurgie à la thérapeutique médicale, après avoir fouillé tout le chaos de la polypharmacie des anciens, nous retrouvons dans la composition de la thériaque d'Andromaque toutes les drogues dont les vertus ont été successivement vantées par les médecins de l'antiquité, et chantées par les poètes.

Cet électuaire célèbre, imaginé par le médecin de Néron, contenait les 54 substances reconnues par la méthode empirique pour être les plus actives, et était destiné à guérir toutes les maladies. La thériaque a joui d'une vogue telle que, conseillée par tous les médecins, sa formule a traversé tous les siècles pour arriver jusqu'à nous, et qu'elle a même été regardée par le savant Bordeu comme le remède par excellence. Or, nous voyons qu'elle est composée de : sulfate de fer, poudre d'opium, quelques substances amères tanniques, et de 42 substances aromatiques actives par leurs essences.

Ainsi, les essences ont été les antiseptiques connus et employés par les anciens. La médecine populaire a hérité de ces vieilles traditions ; les plantes aromatiques fournissent encore

aujourd'hui les éléments les plus importants de cette thérapeutique. D'autre part, beaucoup d'essences sont encore employées comme condiments, beaucoup d'autres sont utilisées dans la parfumerie. N'est-il donc pas intéressant de vérifier par les nouvelles méthodes expérimentales la valeur réelle de ces produits consacrés jusqu'ici par l'empirisme?

Des tentatives dans ce sens ont du reste été faites. M. Chamberland, dans un mémoire remarquable (voir *Annales de l'Institut Pasteur*, avril 1887), a démontré que les vapeurs d'essence ont sensiblement la même propriété antiseptique que les essences elles-mêmes agissant par contact direct. Mais nous avons cru devoir employer une méthode différente.

Nous avons enduit d'une culture, sur gélose, du microbe à étudier, l'extrémité d'un fil de platine préalablement passé à la flamme, puis ce fil a été plongé dans l'essence pendant un temps variable. Avec le fil portant la culture ainsi modifiée par l'essence nous avons ensemencé des tubes de gélose, qui ont été ensuite placés dans une étuve à 37°. La gélose est une substance qui ne se mélange pas avec les essences, et la goutte d'essence apportée par le fil reste à la surface : mais bientôt elle s'évapore, et, si les microbes n'ont pas été tués, la culture se fait.

Nous avons renouvelé nos essais un grand nombre de fois pour chaque essence, en égalisant autant que possible les quantités de semence emportées par les fils de platine, et ne faisant varier que le temps de leur contact avec l'essence.

Notre but a été d'établir ainsi une échelle de l'action antiseptique des essences basée sur la durée de leur contact avec les microbes. Certains expérimentateurs ont eu recours au procédé des émulsions pour obtenir la solubilité des essences. Cet artifice présente le double inconvénient d'introduire des éléments étrangers comme l'alcool et la saponine employés pour produire l'émulsion, et de créer ainsi un milieu variable et imparfait. C'est pourquoi il nous a semblé préférable de prendre le temps comme terme de comparaison, évitant encore du même coup les nombreuses causes d'erreur qui s'introduisent dans l'expérimentation avec des doses infinitésimales.

Parmi les nombreux microbes qui s'offraient à nous comme objet d'étude, nous avons choisi en premier lieu celui de la fièvre typhoïde et celui de la morve pour comparer les actions

des différents microbicides les plus usités de nos jours avec les actions des essences.

C'est ce tableau comparé que nous présentons aujourd'hui :

A. — ÉTUDE DU MICROBE DE LA FIÈVRE TYPHOIDE

I. — ACTION DES ANTISEPTIQUES LES PLUS USITÉS DE NOS JOURS

Le sublimé à $\frac{1}{1000}$	tue le microbe en	10 minutes.
L'éther iodoformé saturé.	—	36 heures.
La solution de sulfate de cuivre à 2 0/0	—	9 jours.
— d'acide phénique à 5 0/0	—	9 —
— d'acide borique à 1 0/0	—	11 —
— d'acide phénique à 1 0/0	—	12 —

II. — ACTION DES ESSENCES

A. — *Essences qui tuent le microbe après un contact de moins de 24 heures :*

Cannelle de Ceylan.	le tue au bout de	12 minutes.
Girofle.	—	25 —
Eugénol	—	30 —
Thym.	—	35 —
Serpolet.	—	35 —
Verveine des Indes.		45 —
Géranium de France. . . .	—	50 —
Origan ou dictame de Crète.	—	75 —
Patchouly.	—	80 —
Zédoaire.	—	2 heures.
Absinthe.	—	4 —
Santal.	—	12 —
Cédrat	—	22 —

Si nous comparons ce tableau A au tableau I, nous trouvons que la solution de sublimé à 1/1000 tient le premier rang, mais que l'essence de cannelle a une puissance antiseptique sensiblement égale, puisque la première tue le microbe en 10 minutes et la seconde en 12 minutes.

La comparaison faite avec les antiseptiques modernes, tels que : solution d'acide borique, d'acide phénique, de sulfate de cuivre et d'iodoforme, est tout en faveur des essences : beaucoup d'entre elles empêchent l'évolution du microbe après quelques minutes ou quelques heures; les autres antiseptiques n'agissent qu'au bout de plusieurs jours.

Remarquons que la cannelle de Ceylan était très employée par les Égyptiens dans les embaumements, et qu'elle entrait dans la composition de la thériaque.

Le girofle n'était pas connue des Grecs ni des Latins. Paul d'Egine est le premier qui en parle. Cependant Caillaud dit avoir trouvé un collier de clo us de girofle dans un sarcophage antique.

Le thym et le serpolet ont été utilisés de tout temps dans la médecine populaire, et pour la conservation des bouillons et des viandes.

La verveine des Indes est très utilisée encore de nos jours en infusion théiforme; ses propriétés antiseptiques ne sont pas encore assez connues.

L'origan ou dictame de Crète a été employé dans les temps héroïques de la Grèce comme vulnéraire. Virgile en parle dans son *Enéide*, livre XII.

La place occupée par l'origan dans le tableau précédent justifie la croyance à ses propriétés merveilleuses.

B. — *Essences qui tuent le microbe entre 24 et 48 heures :*

Cumin	après un contact de	27	heures.
Carvi.	—	27	—
Genièvre.	—	29	—
Matico.	—	29	—
Galbanum.	—	29	—
Mélisse.	—	30	—
Valériane.	—	32	—
Citron.	—	32	—
Angélique.	—	35	—
Céleri.	—	36	—
Cigue aquatique (Phellandrie).	—	36	—
Sabine.	—	36	—
Copahu.	—	37	—
Poivre.	—	45	—
Térébenthine.	—	45	—
Opoponax.	—	47	—
Rose.	—	48	—
Camomille.	—	48	—
Aunée.	—	48	—
Ether iodoformé saturé. . . .	—	36	—

Ce deuxième tableau nous montre que l'éther iodoformé ne tient que le septième rang, et cependant, entre les mains des professeurs Bouchard et Renaut, il est devenu l'antiseptique préféré dans le traitement de la fièvre typhoïde. Nous trouvons avant lui le genièvre, le galbanum, déjà employés dans les

embaumements. Les Égyptiens enduisaient le corps d'essence de genièvre avant l'application des bandelettes. Le galbanum, l'opoponax, la térébenthine étaient les principales oléo-résines injectées dans les viscères après dissolution dans les essences. La valériane, le citron, le poivre et la térébenthine entraient dans la thériaque.

C. — *Essences qui agissent après un contact de 2 à 4 jours :*

Badiane	50 heures.
Semen-contra	50 —
Encens	52 —
Sassafras	52 —
Tubéreuse	60 —
Coriandre	70 —

L'encens est de ces essences la seule employée par les Égyptiens. Il entre dans la thériaque. Il est plus actif que la solution de sulfate de cuivre à $\frac{2}{100}$ contre le microbe d'Eberth.

D. — *Essences qui tuent le microbe entre 4 et 10 jours.*

1° Entre 4 et 5 jours :

Calamus aromaticus.
Estragon.

Le *calamus aromaticus* a une puissance antiseptique sensiblement supérieure à celle de la solution d'acide phénique à 5 0/0. Il est un des composants de la thériaque.

2° Entre 6 et 8 jours :

Sabine.	Bucco.
Fenouil.	Cascarille.
Macis.	Orange de Portugal.
Sauge.	Hysope.

Remarquons que le fenouil entre dans l'électuaire d'Andromaque, et que la sauge était l'*herbe sacrée* de Lesbos.

3° Entre 8 et 10 jours :

Menthe.	Laurier d'Apollon.
Muscade.	Myrte.
Romarin.	Linaloë.
Carotte.	Aspic.
Moutarde.	Eucalyptus.
Anis.	Bois de cèdre.
Ail.	Cajeput.
Marjolaine.	Wintergreen
Amandes amères.	Camphre.
Laurier-cerise.	

Une solution d'acide phénique à 1 0/0 n'agit qu'au bout de 12 jours de contact. Nous voyons dans cette colonne beaucoup d'aromates très vantés comme antiseptiques, et dont l'action est égale ou supérieure à celle de la solution d'acide phénique à 5 0/0.

Les anciens employaient dans les embaumements l'essence de bois de cèdre.

E. — *Essences qui n'agissent pas après* 10 *jours de contact :*

Basilic.	Rue.
Houblon.	Tanaisie.
Panais.	Boldo.

Ces six essences, les moins actives de notre échelle, ont cependant une puissance antiseptique égale à celle d'une solution d'acide borique à 4 0/0.

B. — ÉTUDE DU MICROBE DE LA MORVE

Nous avons répété sur le microbe de la morve les expériences faites sur le microbe d'Eberth, en restant fidèles à notre méthode.

I. — ACTION DES ANTISEPTIQUES LES PLUS USITÉS DE NOS JOURS

Le sublimé corrosif à $\frac{1}{1000}$	tue le microbe en	15 minutes.
Solution d'acide phénique à 5 0/0 . .	—	30 heures.
— d'acide phénique à 1 0/0. .	—	45 —
Iodoforme.	—	3 jours.
Solution d'acide borique à 4 0/0 . .	—	4 —
— de sulfate de cuivre à 2 0/0	—	10 —

II. — ACTION DES ESSENCES

A. — *Essences qui tuent le microbe après un contact de* 24 *heures :*

Cannelle de Ceylan. . . .	après	15	minutes	de contact.
Girofle.	—	35	—	—
Thym et serpolet.	—	38	—	—
Verveine des Indes. . . .	—	38	—	—
Patchouly.	—	40	—	—
Géranium de France. . .	—	50	—	—
Origan (dictame de Crète)	—	80	—	—



B. — *Essences qui tuent le microbe après un contact compris entre 2 et 24 heures :*

Citron.	après un contact de	6	heures.
Cubèbe.	—	6	—
Assa-fœtida.	—	7	—
Copahu.	—	10	—
Santal.	—	12	—
Cédrat.	—	12	—
Ciguë aquatique (Phellandrie)	—	17	—
Tubéreuse	—	20	—
Zédoaire	—	20	—

C. — *Essences qui agissent entre 24 et 48 heures :*

Carvi	24	heures de contact	belle culture.
	48		pas de culture.
Cumin	24	—	belle culture.
—	48	—	pas de culture.

D. — *Essences qui tuent le microbe de la morve après un contact compris entre 2 et 4 jours :*

Racines d'angélique	au bout de	2	jours 1/2.
Bergamote	—	2	jours 1/2.
Semen-contra.	—	60	heures.
Galbanum.	—	66	—
Matico.	—	66	—
Térébenthine et térébenthène. .	—	67	—
Rose.	—	70	—
Coriandre.	—	3	jours 1/2.
Genièvre.	—	84	heures.

E. — *Essences qui tuent après un contact variant de 4 et 10 jours :*

Calamus aromaticus	après	5	jours.
Galanga.	—	7	—
Fenouil.	—	7	—
Sabine.	—	7	—
Opoponax.	—	8	—
Macis.	—	8	—
Sauge.	—	8	—
Persil.	—	9	—
Néroli.	—	9	—
Petit grain.	—	9	—
Cascarille.	—	10	—
Romarin.	—	10	—
Bucco.	—	9	—
Hysope.	—	8	—

Carotte	—	10	jours.
Moutarde	—	10	—
Ail	—	10	—
Encens	—	9	—
Elèmi	—	9	—
Estragon	—	5	—
Camphre	—	9	—
Absinthe	—	9	—
Menthe	—	10	—

F. — *Essences qui tuent après un contact compris entre* 10 *et* 15 *jours :*

Amandes amères	au bout de	11	jours.
Marjolaine	—	12	—
Sassafras	—	13	—
Laurier-cerise	—	13	—
Serpentaire	—	13	—
Myrrhe	—	14	—
Linaloë	—	14	—
Muscade	—	15	—

G. — *Essences qui ne tuent qu'après un contact de* 15 *jours :*

Myrte.	Cajeput.
Aunée.	Tanaisie.
Panais.	Lavande.
Eucalyptus.	Houblon.
Gingembre.	Bois de cèdre.
Basilic.	Camomille.
Rue.	Aspic.
Badiane.	Wintergreen.
Boldo.	Laurier d'Apollon.
Anis vert.	Noyaux de cerises.

En comparant les essences avec les antiseptiques employés de nos jours, nous voyons qu'en face du microbe de la morve, l'avantage n'est pas aux essences. La puissance antiseptique des essences reste la même contre le microbe de la morve ou contre le microbe typhogène; mais celle des antiseptiques minéraux est de beaucoup supérieure à celles qu'ils possèdent contre le microbe de la fièvre typhoïde.

Comme résultat de ce travail, constatons que chaque essence est un antiseptique aussi puissant contre le microbe typhogène que contre le microbe morvigène. Ce pouvoir varie d'une essence

à l'autre, pour devenir avec quelques-unes sensiblement égal à celui des antiseptiques chimiques les plus employés, tels que le sublimé, l'iodoforme, le sulfate de cuivre, etc. Nos conclusions confirment le travail déjà cité de M. Chamberland. Nous en sommes d'autant plus heureux qu'il a expérimenté sur un autre genre de microbe, la bactéridie charbonneuse, et en employant une méthode différente de la nôtre. Il a étudié l'action des essences soit à l'état de vapeur, soit par contact direct en usant du procédé des émulsions, et il arrive à les classer ainsi d'après leur degré d'efficacité :

Cannelle de Ceylan.	Angélique.
Origan.	Genièvre.
Girofle.	Vespetro.
Géranium.	

Nous en retrouvons la plupart dans notre premier tableau; le genièvre et l'angélique figurent dans le second, mais sont encore des plus actifs. Bien que l'essence de vespetro soit présentée comme très active par ses vapeurs, nous l'avons laissée de côté, parce qu'elle est un composé d'angélique, de coriandre, d'anis et de fenouil. Nous avons toutefois remarqué que ses propriétés antiseptiques sont plus grandes que la somme algébrique des propriétés de chacune des essences composantes. Peut-être y aura-t-il un grand intérêt à étudier les propriétés microbicides des mélanges.

Ne soyons donc plus surpris que les Égyptiens aient pu à l'aide d'essences et de parfums prévenir la putréfaction des corps. Nous retrouvons aussi dans la thériaque d'Andromaque la plus grande partie des essences étudiées et reconnues par nous comme les plus actives.

L'antisepsie médicale n'est donc pas d'origine récente : s'ils ignoraient le mot, les anciens pratiquaient du moins la chose, et la science moderne semble bien leur donner pleinement raison. Aussi croyons-nous qu'une étude des substances aromatiques au point de vue de leur action physiologique aurait pour effet de les remettre en faveur et d'enrichir l'antisepsie de produits très actifs et trop dédaignés.

LETTRE DE M. WYSSOKOWICZ A M. DUCLAUX.

« Monsieur,

« Les deux articles que M. Gamaleïa a publiés dans le numéro d'octobre 1888 des *Annales* me semblent exiger de ma part une courte réponse.

« Je laisse tout de suite de côté le ton peu courtois de la note de la page 548, dans laquelle M. Gamaleïa, sans rien citer de l'article auquel il fait allusion, et s'adressant à des lecteurs destinés, pour la plupart, à ne pas le connaître, le présente comme une réclamation de priorité soit vis-à-vis de M. Metchnikoff au sujet de la phagocytose, soit vis-à-vis de l'école de M. Pasteur au sujet des vaccins chimiques. Dans aucun de mes travaux, je n'ai eu la prétention de revendiquer la découverte de la théorie des phagocytes avant M. Metchnikoff. Dans mon article du numéro 1 du *Zeitschrift f. Hygiene*, puis dans l'article du *Wratch* (n° 39, 1887) « sur les causes de la suppuration », j'ai soutenu et démontré par des faits, avant que M. Metchnikoff n'eût créé ses macrophages, que la lutte contre les microorganismes n'est pas le fait des globules blancs (leucocytes), mais bien des éléments cellulaires du tissu conjonctif, auxquels M. Metchnikoff a donné depuis tant d'importance.

« Au sujet de cet autre reproche que me fait M. Gamaleïa, d'avoir employé un lapin comme témoin pour contrôler la virulence d'un virus charbonneux destiné à des moutons, je dois faire observer que si M. Skadowski a agi ainsi, c'était par économie, et parce que l'épreuve lui semblait d'ailleurs peu nécessaire ; cette expérience était du reste un premier essai, et, en poursuivant ce sujet, M. Skadowski [1] a pris comme témoins non des lapins, mais des moutons. Il a trouvé ainsi qu'on peut, à l'aide des vaccins stérilisés de M. Cienkowski, obtenir l'immunité du mouton contre le charbon, mais cette immunité n'est pas aussi durable qu'avec le vaccin ordinaire. De plus, la dose du vaccin stérilisé y joue un grand rôle. Ce sont à peu près les mêmes résultats que ceux de MM. Roux et Chamberland.

« Pour se montrer un critique aussi sévère, il faut être inattaquable soi-même. M. Gamaleïa est-il bien sûr de ne pas s'être trompé quand

1. *Wratch*, numéros 9 et 10, 1889.

il a vu les bacilles du vaccin charbonneux, introduits en injections sous-cutanées chez un animal, se multiplier au point d'inoculation, passer dans le sang, former des dépôts dans les organes, le foie, la rate, les reins, et s'éliminer avec l'urine ? Je n'ai au moins jamais rien vu de pareil, ni M. Chalachnikoff dans ses expériences sur les moutons, ni M. le Dr Bitter dans le laboratoire de M. Flügge, et cela bien que M. Chalachnikoff et moi ayons employé, parallèlement à la méthode des cultures, celle des observations microscopiques, que M. Gamaleïa me reproche d'avoir négligée.

« Ce n'est pourtant pas que je veuille établir comme une loi absolue l'impénétrabilité des membranes animales pour les bactéries, comme M. Gamaleïa se l'imagine.

« Mes recherches montrent seulement que les membranes saines ne se laissent pénétrer ni par les bactéries, ni par les substances granuleuses qui se trouvent dans le sang. A l'état normal, il n'y a introduction ni dans l'urine par les reins, ni dans l'intestin par ses parois. J'ai montré aussi qu'il y a des bactéries pouvant former des foyers d'infection dans les reins, et qu'on peut y retrouver à l'aide du microscope et des cultures. Tels sont le *staphylococcus aureus*, le bacille tuberculeux de Koch, et aussi le *bacillus anthracis*. Ce qui n'empêche pas pourtant que la loi de l'impénétrabilité des membranes saines ne soit vraie aussi pour le charbon. Les bacilles charbonneux, injectés dans le sang, s'éliminent peu à peu, passent dans les organes, le foie, la rate, dans la moelle des os. Dans les reins, ils sont peu nombreux et on n'en trouve pas dans les urines, même 10 à 15 heures après l'injection. Quand on en rencontre, ce n'est qu'après l'établissement dans les reins de foyers d'infection bacillaire, ouvrant passage dans les canalicules urinaires.

« Pour le tube digestif, j'ai indiqué plusieurs bactéries, qui, sans être pathogènes, sont douées de propriétés toxiques. Injectées dans le sang à fortes doses, elles déterminent chez les chiens et chez les lapins des phénomènes d'intoxication, souvent suivis d'extravasation dans les parois intestinales. C'est seulement dans ce dernier cas que j'ai pu découvrir, dans le canal intestinal, ces mêmes bactéries. J'ai vu que le même effet se produit pour le foie. Les bactéries n'entrent pas dans la bile par les voies sanguines.

« Toutes ces affirmations se trouvent dans mon articles du numéro 1 du *Zeitschrift f. Hygiene* 1886. Il suffit de le consulter pour se convaincre de l'erreur de M. Gamaleïa au sujet de l'opinion qu'il m'attribue.

« Permettez-moi d'ajouter quelques mots au sujet de l'immunité que confère la vaccination charbonneuse de M. Pasteur.

« Je pars de cette notion que toute culture d'un microbe pathogène

fournit des substances nuisibles aux éléments des tissus. Ces substances, variables d'une affection à l'autre, peuvent varier aussi par leur mode de pénétration dans les éléments qu'elles atteignent, par la façon dont elles les atteignent, etc. Avec le vaccin charbonneux, qui ne donne qu'une maladie légère, le bacille ne pénètre ni dans le sang ni dans les organes, ne se multiplie même, d'après M. Bitter, que faiblement au point d'inoculation, et y périt au bout de 24 heures, il n'y a qu'une seule manière d'expliquer l'élévation de température chez les animaux vaccinés, et leur immunité, c'est d'admettre que la fièvre et l'immunité sont dues à la pénétration dans le sang des produits vitaux des bacilles. C'est une explication qui est d'accord avec mes expériences sur l'immunité conférée par des vaccins stérilisés et avec les résultats de MM. Roux et Chamberland, obtenus avec du sang stérilisé d'animaux morts du charbon.

« Si l'immunité que j'ai produite dans mes expériences est moins durable qu'avec des vaccins non stérilisés, cela peut s'expliquer soit par la modification subie pendant la stérilisation par les substances toxiques, soit par leur absorption plus rapide dans le sang, ou leur élimination plus rapide par les urines. Le vaccin non stérilisé n'a pas besoin d'être introduit à des doses aussi fortes, mais il a pour lui le temps, qui lui permet de produire la dose vaccinale.

« Dans l'action qu'il exerce ainsi sur les éléments cellulaires, je vois une certaine analogie avec le vulgaire phénomène de l'habitude. C'est ainsi qu'on s'habitue à la morphine, à l'arsenic, et à cette habitude correspond certainement une modification du protoplasme des éléments cellulaires. Ce protoplasme réagit d'abord énergiquement contre la substance toxique, mais quand il arrive a pouvoir la supporter, il peut en absorber des quantités considérables. C'est l'analogue de l'immunité acquise; quant à l'immunité naturelle, nous avons l'exemple des animaux qui sont presque indifférents à la morphine. J'ai vu, par exemple, des pigeons supporter, sans accoutumance préalable, l'injection dans les muscles pectoraux de 12 centigrammes de morphine dans 3^{cc} d'eau. Nous ne pouvons distinguer morphologiquement le protoplasme des cellules du pigeon de celui de l'homme; il doit pourtant exister entre eux une grande différence.

« La nature du poison, le mode d'administration, la durée de l'accoutumance, la nature de l'animal jouent dans cette question de mithridatisme le même rôle que dans les immunités morbides.

« Ces analogies ont été indiquées par quelques savants ; je sais bien qu'en général des analogies seules sont une base fragile pour asseoir une hypothèse. Mais si cette hypothèse ainsi basée sert de point de départ à de nouveaux travaux, et groupe dans une même direction les

efforts de plusieurs savants, quand le sujet est trop étendu pour être abordé par un seul homme, il n'y a pas d'inconvénient à la risquer. Je désire attirer l'attention sur la nécessité d'étudier l'accoutumance de l'organisme contre les poisons, qui nous apprendra certainement des faits très intéressants, relatifs à la vie du protoplasme, et nous aidera à comprendre l'immunité. J'ai déjà commencé sur ce sujet quelques expériences dont je communiquerai bientôt les résultats.

« Je voudrais préciser en terminant la signification de l'accoutumance dans la lutte contre l'infection. Un microbe n'étant pathogène que parce qu'il peut, en se développant en un point favorable, agir à l'aide de ses toxines sur les fonctions des cellules, en amoindrissant ou en anéantissant leur faculté de réaction, peu importe qu'il pénètre dans les éléments cellulaires protoplasmatiques ou qu'il n'agisse que de loin sur eux par ses produits. Dans les deux cas, en supprimant les résistances autour de lui, en se multipliant, ce microbe élargira son rayon d'action jusqu'au moment où, pénétrant dans les vaisseaux, il infectera l'organisme entier. Dans l'immunité, la réaction locale est beaucoup moins intense, les cellules ne se nécrosent pas, et les bactéries périssent soit par l'action des sucs organiques (Nuttall), soit par l'action du temps. C'est là que l'accoutumance doit rendre des services, d'autant plus grands qu'elle n'a pas besoin d'augmenter beaucoup la puissance de réaction des tissus. Il ne s'agit pas d'obtenir des effets comparables à ceux qu'on réalise dans l'accoutumance à la morphine, par exemple, pour laquelle, en commençant par 1 centigramme, on peut monter à 2gr et plus. D'aussi grandes variations sont inutiles et il suffit d'un très faible changement dans le protoplasme des cellules de l'animal vacciné pour que le microbe introduit au point d'inoculation n'y trouve pas de conditions favorables à son développement.

« Veuillez agréer, etc. »

REVUES ET ANALYSES

S. Kitasato. Sur le bacille du charbon symptomatique et sur sa culture. *Zeitschrift für Hygiene,* vol. VI, p. 105.

L'auteur a fait ses cultures dans du bouillon de cobaye, de bœuf, où le bacille du charbon symptomatique croissait avec abondance. Sa végétation était beaucoup moins riche dans les bouillons préparés avec les muscles frais de lapin, de veau et de poule.

M. *Kitasato* n'a obtenu ses cultures que dans un bouillon faiblement acide ; une fois neutralisé ou rendu alcalin, ce milieu ne permet plus la croissance des bacilles.

Le sérum liquide ou solidifié, les pommes de terre et les autres milieux solides n'ont jamais donné de cultures du bacille charbonneux. Pour les obtenir; il faut donc toujours recourir au bouillon qui doit être placé dans une atmosphère d'hydrogène, vu que la bacille purement anaérobie du charbon symptomatique ne croît jamais dans l'acide carbonique.

Les cultures obtenues par M. Kitasato étaient bien virulentes, mais ne restaient telles que pendant peu de temps, de sorte qu'elles devaient être renouvelées tous les huit jours. Ces cultures étaient pathogènes pour les cobayes et pour plusieurs souris, mais non pour les lapins.

Après avoir observé que les bacilles des cultures ainsi que ceux de la sérosité des animaux morts du charbon symptomatique perdaient leur virulence lorsqu'on les conservait sur des fils de soie, beaucoup plus vite que dans des couches épaisses de viande, M. *Kitasato* pense que les corps réfringents qui se trouvent si fréquemment chez les bacilles ne représentent pas des spores véritables.

M. *Kitasato* a fait aussi quelques expériences sur l'immunité artificielle des cobayes, qu'il a obtenue non seulement après l'injection de cultures chauffées pendant une demi-heure à 80°, mais simplement après une dose d'une culture âgée de quinze jours. Les muscles des cobayes ainsi immunisés donnaient un bouillon dans lequel les bacilles poussaient aussi bien que dans du bouillon de cobayes ordinaires.

A la fin de son mémoire, M. *Kitasato* rapporte deux expériences, dans

lesquelles des cobayes nés de mères immunisées ont résisté à l'inoculation du charbon symptomatique virulent.

De tout le mémoire de M. *Kitasato* il résulte avec évidence que les travaux importants de MM. *Arloing*[1], qui le premier a fait des cultures; *Roux*[2], *Roux* et *Nocard*[3] sur le charbon symptomatique, lui ont complètement échappé. Il y aurait vu que les cultures du *Bacillus Chauvœi* ont été déjà obtenues dans du bouillon légèrement alcalin et en l'absence de l'air par M. *Roux*; il y aurait aussi trouvé que l'immunité des cobayes peut être obtenue même avec des cultures chauffées à 115°.

Je dois remarquer encore que les corps ovales réfringents doivent être considérés comme des spores indubitables, et que leur mort plus rapide sur des fils de soie ou dans des couches minces de muscles n'est nullement un argument contre cette opinion. Les faits recueillis par M. *Kitasato* prouvent seulement que les spores, dans des couches épaisses de viande, sont mieux protégées contre la destruction que dans les couches minces ou sur des fils de soie.

METCHNIKOFF.

A. HANAU. — Inoculation réussie du cancer. *Fortschritte der Medicin*, 1889, p. 321.

Toutes les recherches entreprises sur ce sujet, depuis celle de Langenbeck jusqu'à celles de Doutrelepont, Koster, Schottelius et Kahlden, n'ont abouti qu'à des conclusions douteuses et qui ne pouvaient résister à une critique un peu approfondie.

Deux seuls expérimentateurs, dit l'auteur, ont obtenu des résultats dignes d'être pris en considération. Il s'agit des expériences de Novinsky[4] et de celles de Wehr[5]. Ces deux auteurs pratiquèrent des inoculations sous-cutanées de chien à chien. Novinsky obtint deux fois (sur un grand nombre d'inoculations) le développement d'une tumeur au point inoculé. Cette tumeur fut reconnue histologiquement comme un carcinome. Dans l'un de ces deux cas, il y eut même une métastase ganglionnaire, qui fut de même reconnue, au moyen du microscope, comme étant de nature carcinomateuse. Quant à Wehr, il obtint des noyaux de structure carcinomateuse, mais qui disparurent spontanément au bout de quelque temps sans laisser de traces!

1. ARLOING, CORNEVIN et THOMAS. *Le charbon symptomatique.*
2. Ces *Annales*, 1887, p. 257.
3. Ces *Annales*, 1888, p. 50.
4. NOVINSKY. *Centralblatt der medicin. Wissensch*, 1876.
5. WEHR. Congrès des chirurgiens allemands de 1888.

La valeur des résultats obtenus par la transplantation de petits noyaux provenant d'un cancer en cuirasse sur des parties saines du thorax, faites par *Hahn*, a été à juste titre contestée par Virchow, puisqu'il ne s'agissait pas de noyaux cancéreux, mais de transplantations réussies de peau cancéreuse.

Parmi les rats blancs apprivoisés de l'Institut anatomo-pathologique de Zurich, qui tous descendaient de quatre individus, il s'était présenté déjà deux cas de cancroïde des organes génitaux externes. Un de ces animaux, une femelle agée, succomba dans la nuit du 27 au 28 novembre 1888. L'auteur avait fait ingérer à cet animal, 13 jours auparavant, une végétation ressemblant à l'*actinomyces*, sans examiner avec soin l'animal. La nécroscopie pratiquée le 28 fit constater sur la vulve une ulcération de la grandeur d'un franc, à bords renversés, assez indurés, et présentant des papilles en un point. Le fond de l'ulcération était inégal et présentait des masses nécrotiques. Une coupe pratiquée sur la masse ulcérée fit constater que l'ulcération reposait sur une tumeur blanc jaunâtre, d'un centimètre d'épaisseur, et de laquelle on pouvait, par le grattage, retirer du suc cancéreux. Dans la région inguinale droite, se trouvait une ulcération analogue, à bords décollés, qu'une coupe montra reposant sur une tumeur à épaisseur inégale. L'ensemble représentait un ganglion lymphatique ulcéré. Il y avait encore, dit l'auteur, une ganglion malade mais non ulcéré dans la région inguinale gauche, et un autre dans l'aisselle droite. Les autres organes étaient sains. Déjà, à la simple vue, le diagnostic de cancer avec métastase dans les aines et l'aisselle droite s'imposait.

L'examen histologique confirma absolument cette manière de voir : on trouva un cancer à lobes épidermiques.

L'auteur enleva du centre de chacun des ganglions non ulcérés un petit fragment. Ces fragments furent inoculés dans le scrotum de deux rats. Le scrotum fut incisé avec des ciseaux jusqu'à ce que le testicule devînt visible; puis la plaie fut suturée au catgut.

L'un des deux rats succomba le 14 janvier 1889. Il n'y avait rien à remarquer à un premier examen et l'auteur ne put retrouver la cicatrice de son incision. Sur le repli du canal déférent droit, il y avait quelques nodules translucides, de la grandeur d'une tête d'épingle ou d'un grain de millet. L'organe ressemblant à un épiploon et qui accompagne chez le rat les vaisseaux spermatiques internes, jusqu'au niveau de la région lombaire, présentait des deux côtés un grand nombre de noyaux blanchâtres, arrondis, formés de l'agglomération de nodules plus petits. Tout le grand épiploon était très épaissi et transformé en une masse de noyaux. Le plus gros de ces noyaux se trouvait vers le milieu du bord inférieur et présentait la grosseur d'une cerise. A la coupe,

la plus grosse tumeur présentait une couche superficielle, translucide, étroite, d'un gris clair et une partie centrale opaque, blanchâtre et donnant du suc cancéreux. Il y avait aussi des petites granulations sur ce petit épiploon, de même que sur la face inférieure du lobe gauche du foie, et entre l'estomac et la rate. Tous les autres organes étaient atrophiés, mais exempts de néo-formations.

L'examen histologique, pratiqué sur la plus grosse ainsi que sur l'une des petites granulations, permit de constater qu'il s'agissait d'un carcinome absolument identique à celui qui avait servi pour l'inoculation.

L'autre rat fut examiné le 26. Il présentait toutes les apparences d'une excellente santé. A la vue, on constata sur le côté droit du prépuce une ulcération de 1 centimètre de diamètre, à bords non décollés et non tuméfiés, et à fond lisse et propre. Sur le pénis, il y avait deux excroissances, de la grosseur d'un grain de millet, à surface lisse. Rien d'anormal du côté de la cicatrice scrotale, mais par la palpation, il fut aisé de trouver, au-dessous du testicule droit, une tumeur ayant un volume moitié moindre que celui du testicule lui-même. On fit l'autopsie de l'animal le 28. L'ulcération était recouverte d'une mince couche de pus. Les excroissances étaient des lobules glandulaires (glandes de Cooper). A l'examen microscopique, ces lobules glandulaires ne présentèrent aucune trace d'hyperplasie cellulaire. Sur le testicule il y avait deux tumeurs, l'une aplatie, blanchâtre, située sur le *gubernaculum hunteri* droit ; une autre tumeur plus volumineuse, présentant 8 millimètres de long sur 3 à 4 millimètres de large, située sur la queue de l'épididyme, et développée sur la séreuse testiculaire, constituait la tumeur qu'on avait notée par la palpation à travers le scrotum.

Ce noyau se montre à la section, comme formé par la réunion de 4 noyaux plus petits, blanchâtres, finement granuleux et peu transparents. Tous les autres organes sont sains. L'animal est gras et bien nourri.

L'auteur a fait de nouvelles inoculations avec des parties provenant de cette tumeur. Les résultats seront communiqués plus tard.

La petite tumeur présentait à la surface une couche d'épithelium plat qui se transformait en une épaisse couche d'épithélium corné vers le bord, et le tout reposait sur un tissu conjonctif nettement papillaire. Dans les espaces interpapillaires, on voyait des traînées épithéliales qui contenaient des masses cellulaires, rangées concentriquement, et à cellules cornées vers le centre. La grosse tumeur était d'une façon très nette constituée histologiquement par un carcinome à globes épithéliaux.

L'auteur croit pouvoir conclure, des expériences que nous venons d'analyser, que le cancer est inoculable.

Il est certainement fort regrettable que les individus, sur lesquels ces expériences ont porté, appartiennent à une seule famille de rats, famille dans laquelle le cancer s'était montré spontanément déjà chez deux individus.

Le premier rat, celui sur lequel l'auteur prit des fragments pour inoculer les autres, avait servi quelque temps auparavant à une inoculation avec une végétation actinomycétique.

Il ne faut pas non plus oublier les communications de Volkman sur le cancer par la paraffine. Enfin l'introduction dans la vaginale de particules de tumeur ne peut-elle pas amener une espèce de greffe ? Une tumeur greffée, qui continue ensuite à se développer, n'est pas une tumeur inoculée. On pourrait dans ce cas appeler les résultats de l'auteur *greffe réussie d'une tumeur cancéreuse*, et cela n'est pas tout à fait la même chose qu'une inoculation réussie.

Iscovesco.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de la rage.

Moons (Henri), 24 ans, d'Anvers, Belgique. Mordu le 2 mars 1887 par un chien reconnu enragé par M. Dell, vétérinaire, qui a observé l'animal vivant et a pratiqué l'autopsie. Moous a été mordu au genou droit, quatre morsures légères qui n'ont pas saigné, le pantalon a été déchiré; à la face sur le côté droit du menton, au niveau du bord inférieur du maxillaire, une morsure; à la lèvre inférieure, près de la commissure gauche, une morsure; à la joue gauche, deux morsures fortes. Toutes les morsures de la face ont saigné, elles n'ont pas été cautérisées, un pansement a été fait par un médecin deux jours après.

Moons a été traité du 7 mars au 2 avril 1887.

Moons a succombé à la rage le 17 mai 1889.

Mme Maillot, née Colvez (Jacquette), 86 ans, de Coatascorn (Côtes-du-Nord). Mordue le 27 avril 1889 par un chien reconnu enragé à l'autopsie par M. Le Berre, vétérinaire à Lannion. Le bulbe de ce chien a été inoculé le 3 mai a un cobaye ; ce cobaye est devenu enragé le 15 mai. Mme Maillot a été mordue à la jambe droite, qui porte à la partie antérieure, au niveau du tiers inférieur, deux morsures très profondes, ayant beaucoup saigné. Ces morsures ont été cautérisées à l'alcali onze heures après qu'elles ont été faites.

Mme Maillot a été traitée du 3 mai au 17 mai.

Elle a été prise de rage paralytique le jeudi 30 mai et a succombé le 2 juin 1889.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE [1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — MAI 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure { simples	»	2	3	»	2	7	»	»	1
{ multiples	»	1		»	5		»	1	
Cautérisations efficaces	»	»	»	1	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	1	»	»	4	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	2	»	»	2	»	»	1	»	»
Morsures aux mains { simples	»	3	11	»	50	92	»	5	19
{ multiples		8		»	42		»	14	
Cautérisations efficaces	»	»	»	1	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	3	»	»	30	»	»	8	»	»
Pas de cautérisation	8	»	»	61	»	»	10	»	»
Morsures aux membres et au tronc { simples	»	6	10	»	18	44	»	6	14
{ multiples	»	4		»	26		»	8	
Cautérisations efficaces	2	»	»	7	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	5	»	»	17	»	»	5	»	»
Pas de cautérisation	3	»	»	20	»	»	9	»	»
Habits déchirés	10	»	»	38	»	»	12	»	»
Morsures à nu	»	»	»	6	»	»	2	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	4	4	»	6	6	»	2	2
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	3	»	»	3	»	»	1	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	3	»	»	1	»	»
Habits déchirés	3	»	»	6	»	»	1	»	»
Morsures à nu	4	»	»	6	»	»	2	»	»
Totaux. { Français et Algériens	..	27	28	..	125	149	..	31	36
{ Etrangers	..	1		..	24		..	5	
		A			B			C	
TOTAL GÉNÉRAL					213				

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 192 fois ; chats, 17 fois ; ânes, 2 fois ; mulet, 1 fois ; homme, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. JUILLET 1889. N° 7

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

DES PHÉNOMÈNES DE PHAGOCYTOSE DANS LES POUMONS

Par le Dr N. TCHISTOVITCH, de Saint-Pétersbourg.

(Travail du laboratoire de M. Metchnikoff, à l'Institut Pasteur.)

Parmi les différentes voies utilisées par les microbes pathogènes pour pénétrer dans l'organisme animal, les poumons, d'après Pettenkofer, occupent la première place. Si accessible que cette voie paraisse être, à première vue, aux germes pathogènes suspendus dans l'air, il n'en est pas moins vrai que l'organisme animal n'est pas dépourvu de défense et possède toute une série de moyens de protection. D'une part, la cavité nasale est une sorte de filtre naturel qui retient la plus grande partie des poussières et des germes qui peuvent se trouver dans l'air inspiré; d'autre part, si la poussière et les germes franchissent ce premier obstacle et arrivent à pénétrer plus profondément, dans la trachée et les bronches, ils ne tardent pas à être expulsés au dehors avec les mucosités bronchiques et trachéales, grâce à l'activité de l'épithélium à cils vibratiles.

Mais tous ces obstacles peuvent être franchis assez facilement; les microbes pénètrent finalement jusqu'aux alvéoles. Et alors la question qui se pose est la suivante : la couche épithéliale normale, intacte, des alvéoles constitue-t-elle une barrière suffisante, capable d'arrêter la pénétration de ces microbes dans l'organisme?

Jusqu'ici cette question a été résolue en des sens très divers par les différents observateurs, Flügge (1) croit cette pénétration fort peu probable, en se basant sur ce fait qu'il a été impossible de trouver des bactéries dans les différents tissus d'un organisme normal (Wyssokovitch) (2). Mais beaucoup d'autres auteurs sont en contradiction absolue avec les idées de Flügge. La perméabilité de la couche épithéliale normale du poumon, pour les poussières et les différents pigments, a déjà été démontrée par toute une série de recherches, particulièrement par les travaux d'Arnold (3) et de ses élèves. Baumgarten et Bolte (4) ont démontré que les bacilles charbonneux morts franchissent très facilement la couche épithéliale normale des alvéoles et peuvent être retrouvés déjà au bout de 3 heures, dans les follicules lymphatiques péribronchiques.

Mais cette pénétration est-elle aussi facile pour les microbes vivants ?

Les recherches expérimentales qui ont été faites à ce sujet ont donné des résultats fort contradictoires. Morse (5) a fait des expériences minutieuses avec des animaux, en leur faisant aspirer ou en introduisant directement dans la trachée, des moisissures pathogènes, des spores du charbon, des cultures de microbes pathogènes réduites en poussière: pas une fois l'infection n'eut lieu. Au contraire, Muskatbluth (6) reproduisait toujours le charbon en introduisant la bactéridie spécifique dans la trachée par des injections faites, soit directement à travers la peau et la couche musculaire, soit en se servant de la fistule cicatrisée de l'animal trachéotomisé. Buchner (7) a obtenu des résultats positifs aussi bien dans ses anciennes expériences, où il faisait aspirer aux animaux de l'eau pulvérisée contenant des bacilles du choléra des poules et des spores du charbon, que dans ses expériences nouvelles faites avec les spores du charbon. Les lapins et les souris qui servaient à ces expériences, succombaient à ces maladies ; toutefois, lorsque les expériences d'aspiration étaient faites avec des bacilles du charbon, les animaux prenaient des pneumonies, mais ne présentaient pas de signes d'infection générale. Dans ce dernier cas, le tissu pulmonaire enflammé ne contenait pas, dans certains endroits, de bacilles ; dans d'autres, là où le processus inflammatoire était moins prononcé, on en trouvait, particulièrement dans des cellules dont la plupart,

d'après Buchner, seraient constituées par les cellules épithéliales des alvéoles. Une partie de ces bacilles était plus pâle ; les bacilles n'étaient pas colorés uniformément, et quelquefois ils se présentaient à l'état granuleux. Dans ses premières expériences qui ont été faites avec Enderlen, Buchner a observé le développement analogue de pneumonies, sans infection générale, chez des souris soumises aux aspirations de cultures du bacille du choléra des poules. Et dans ces cas, la masse des bacilles était absorbée non par les cellules épithélioïdes, mais par les leucocytes.

Dans ces temps derniers, Hildebrandt (8) s'est également occupé de la question qui nous intéresse. Il a fait deux séries d'expériences : dans l'une, il faisait aspirer aux animaux des spores de l'*aspergillus fumigatus;* dans l'autre, il introduisait, à travers la fistule de l'animal trachéotomisé, des cultures du bacille de la septicémie des lapins et de celui du charbon. Dans les expériences avec l'*aspergillus fumigatus*, en faisant l'examen microscopique des poumons, Hildebrandt est arrivé à la conclusion que les spores de ce champignon traversent facilement la couche épithéliale des alvéoles et sont absorbées par des cellules pigmentaires ou à *poussière* (*Staubzellen*). L'introduction dans la trachée de cultures de la septicémie des lapins tuait rapidement ces animaux. L'examen microscopique des poumons n'a pas été fait dans ce cas. Les lapins dans la trachée desquels on introduisait des bacilles du charbon sont restés vivants. Dans une autre série d'expériences où les animaux étaient sacrifiés peu de temps après l'introduction des bacilles du charbon, Hildebrandt est arrivé à démontrer que les bacilles traversaient assez rapidement la couche épithéliale des alvéoles, et étaient absorbés par les cellules pigmentaires. Enfin, il résulte d'une récente communication de Wyssokovitch (9) que, dans ses expériences également, les microbes saprophytes et le *staphylococcus pyogenes aureus* pénétraient facilement dans le tissu pulmonaire; seulement, cet auteur ne croit pas possible le passage de ces microorganismes de la surface interne du poumon dans le sang.

Nous voyons donc que la théorie de l'imperméabilité et de la continuité de la couche épithéliale des alvéoles, telle qu'elle a été formulée par Flügge, est actuellement fortement ébranlée. Il n'en est pas moins vrai que toutes ces recherches sont loin

d'avoir complètement élucidé la question des obstacles que rencontrent les microbes, lorsqu'ils pénètrent dans l'organisme à travers les alvéoles pulmonaires. Ces recherches ne nous indiquent pas pourquoi, parmi les microorganismes, les uns pénètrent facilement dans le tissu du poumon, s'y multiplient et tuent l'animal, tandis que les autres périssent dans le poumon sans avoir occasionné de lésions bien notables. Il est évident que ces différences doivent être expliquées autrement que par la simple rétention mécanique des microorganismes dans les ganglions lymphatiques. Car comment expliquer alors cette différence énorme entre le sort du bacille de la septicémie du lapin et celui du *staphylococcus aureus*? pourquoi le premier microorganisme se multiplie-t-il avec une si grande rapidité et passe-t-il dans le système circulatoire, tandis que l'autre ne tarde pas à périr dans le poumon?

Nous devons pourtant dire que nous possédons déjà des faits qui jettent un peu de jour sur cette partie si intéressante de la bactériologie. Fleck (10) a décrit l'absorption du *staphylococcus pyogenes aureus* par les cellules épithéliales et par les leucocytes, dans la région des alvéoles pulmonaires. Le même phénomène a été signalé par Muskatbluth pour le bacille du charbon. Ribbert (11) en injectant dans les veines des lapins une émulsion de spores *d'aspergillus flavescens*, a vu, dans les capillaires et les alvéoles pulmonaires, les leucocytes entourer ces spores, et arrêter suivant toutes les probabilités leur propagation; plus tard ces spores étaient absorbées par les cellules géantes. Nous avons déjà parlé des expériences de Buchner et Enderlen où les bacilles du choléra des poules étaient absorbés, dans les poumons, par les leucocytes; nous avons également mentionné les faits qui se rapportent à l'absorption des bacilles du charbon, ainsi que les phénomènes qui démontrent la transformation régressive de ces microorganismes. Laehr (12), en introduisant des cultures du *staphylococcus aureus* dans la trachée des lapins, trouvait déjà au bout de quelques heures tous les coccus absorbés par des cellules épithéliales. Ici également les coccus subissaient progressivement une transformation régressive, et finissaient par disparaître complètement. Hildebrandt parle également de l'absorption des bacilles du charbon par les cellules pigmentaires, mais, pour des raisons difficiles à comprendre, il ne s'arrête pas

à ce fait lorsqu'il parle de la disparition des bacilles dans le poumon des animaux.

Nous avons donc devant nous une série de phénomènes qui nous font supposer que le poumon est une sorte de champ de bataille phagocytique. Par conséquent il est tout naturel de penser que la sensibilité inégale de l'organisme à l'infection par tel ou tel microbe, s'explique par le rapport entre les forces des adversaires : des microbes et des phagocytes de l'organisme.

Sur le conseil de M. Metchnikoff, nous nous sommes proposé de poursuivre la marche de cette lutte dans les alvéoles pulmonaires, et de démontrer quels sont les éléments cellulaires qui y participent.

I

DES RAPPORTS ENTRE LES PHAGOCYTES DU POUMON ET LES DIFFÉRENTS MICROBES.

Pour élucider la question qui nous intéresse, j'ai fait, sur des lapins, une série d'expériences avec trois espèces de microorganismes pathogènes : le bacille du choléra des poules, celui du charbon et celui du rouget des porcs.

Dans ces trois microorganismes, nous avons des ennemis du lapin, ennemis dont la force est loin d'être égale. Le bacille du choléra des poules tue le lapin en très peu de temps; le charbon le fait moins rapidement mourir; quant au rouget du porc, l'injection sous-cutanée de ces cultures est quelquefois fort bien supportée par le lapin. Dans tous ces cas, les expériences ont été faites de même. Après avoir trachéotomisé l'animal, les cultures étaient introduites directement dans la trachée à travers la fistule faite auparavant. L'opération était faite de la façon suivante. Après avoir excisé un morceau de peau de la région trachéale, de façon à avoir un orifice de forme ovale, j'écartais avec une pince les muscles longitudinaux du cou et je mettais ainsi à nu la trachée. Les bords de la plaie cutanée étaient ensuite attirés vers les muscles dénudés et suturés, avec du catgut, à ces mêmes muscles, de façon à ne laisser à découvert que la partie supérieure de la trachée. Au bout de 24 à 48 heures, la réunion était ordinairement complète entre la peau et les tissus sous-jacents, tandis que vers la même

époque les parties dénudées étaient déjà couvertes d'une croûte sèche. Avec une aiguille chauffée au rouge, je pratiquais alors un orifice à la trachée et j'introduisais telle ou telle culture. Dans mes expériences avec le choléra des poules, la dénudation de la trachée et son ouverture par l'aiguille chauffée au rouge étaient faites à la fois, mais l'introduction des cultures n'était pratiquée qu'au 3e ou 4e jour, après que les bords de la plaie étaient suffisamment protégés par la croûte.

J'exposerai d'abord les expériences faites avec le choléra des poules. La virulence de la culture sur bouillon dont je me suis servi, était éprouvée par l'injection sous-cutanée faite à un lapin qui, le lendemain, était trouvé mort et dont le sang contenait une masse énorme de bacilles du choléra.

J'introduisais dans la trachée 3 ou 4 gouttes de culture à l'aide d'une pipette en verre à bout recourbé ; pour permettre à la culture d'arriver jusqu'aux bronches, on maintenait le lapin, la tête en l'air, pendant près de 10 minutes. L'introduction étant faite avec quelque précaution, la toux ne survenait pas. Ces expériences sur des lapins ont été au nombre de 3. Tous les animaux ont succombé au bout de 24 à 27 heures. Le sang contenait toujours une grande quantité de microbes du choléra des poules ; macroscopiquement, les poumons présentaient les signes d'une pneumonie.

Pour l'examen microscopique du poumon, je procédai de la façon suivante : le poumon, enlevé de la cage thoracique, était rempli d'alcool à 96° qu'on versait par la trachée ; une fois rempli d'alcool, le poumon était placé dans un flacon contenant également de l'alcool à 96°. Quand le tissu était suffisamment durci, on en coupait des morceaux qu'on montait dans de la paraffine. Les coupes faites au microtome étaient colorées au bleu de méthyle, déshydratées par l'aniline, et montées dans du baume de Canada. Les parties du poumon qui à l'œil nu se présentaient déjà comme atteintes de pneumonie montraient sous le microscope les lésions classiques de la pneumonie catarrhale. Les alvéoles étaient plus ou moins remplies d'un exsudat riche en cellules présentant des formes fort variées. On y voyait de petits lymphocytes à noyau fortement coloré et à protoplasma très réduit; on rencontrait également des leucocytes possédant des noyaux multiples (les microphages) et une grande quantité de

macrophages, cellules volumineuses, plus ou moins aplaties, de forme épithélioïde très variée, possédant un noyau relativement moins bien coloré et un protoplasma qui contenait quelquefois du pigment (*Staubzellen*). Dans les vaisseaux et les alvéoles, ainsi que dans les fentes lymphatiques, les microbes du choléra étaient en grand nombre. Dans les vaisseaux, les microbes étaient partout libres; leur distribution dans les alvéoles et les fentes lymphatiques n'était pas uniforme. Très souvent on rencontrait des régions où les alvéoles ne contenaient guère de microbes; en revanche, dans d'autres, les alvéoles ainsi que tout le tissu en abondaient. Ce qui était intéressant à voir, c'était les rapports qu'affectaient entre eux les cellules et les microbes. Les microbes étaient groupés de préférence autour des macrophages. Dans la plupart des cas, les macrophages étaient littéralement parsemés de microbes; quant aux autres cellules contenues dans les alvéoles pulmonaires, elles étaient bien moins souvent entourées de microbes, et encore ces derniers étaient-ils en nombre bien moins considérable. Mais il faut dire que les macrophages, malgré le nombre considérable de microbes qui les entouraient, n'en absorbaient guère (pl. VI, fig. 1), et ce n'est que très rarement qu'on rencontrait un macrophage contenant des microbes d'une façon non douteuse (fig. 2). Les leucocytes à noyaux multiples, lorsqu'ils étaient quelquefois entourés de microbes, n'absorbaient pas non plus ces derniers.

Ainsi, ce qui caractérise le choléra des poules, c'est la présence d'une masse de microbes libres dans toutes les parties du tissu pulmonaire, le passage libre de ces microbes dans le sang [1], et une sorte d'indifférence, d'inactivité des éléments cellulaires envers les microbes, inactivité plus surprenante encore de la part des macrophages, qui en même temps contenaient une grande quantité de poussières absorbées. Quant à la nature de ces macrophages, qu'on prend ordinairement pour des cellules épithéliales alvéolaires desquamées, nous les étudierons d'une façon spéciale dans une autre partie de ce travail. Nous indiquerons seulement ce fait que des cellules, fort semblables à ces macrophages intra-

1. Nos expériences n'ont pas élucidé la question de savoir si les bacilles passent dans le sang par l'intermédiaire du système lymphatique, ou en pénétrant directement dans les capillaires du poumon. Du reste, ceci n'entrait pas dans le programme de nos recherches.

alvéolaires, se rencontraient également dans les fentes lymphatiques et dans les capillaires, ce qui parlerait en faveur de l'origine leucocytique de ces macrophages.

Les phénomènes qu'on observait étaient tout autres à l'examen des poumons de deux lapins qui ont succombé au charbon. Comme les deux expériences ont présenté des particularités intéressantes, nous les relaterons séparément.

Expérience I. — Grosse lapine grise. Le 6 avril, dénudation de la trachée. Le 7, introduction sous la peau d'un cobaye, d'un fil chargé de spores du charbon. Le cobaye succombe le 9 avril. Le même jour, avec l'aiguille chauffée au rouge, on ouvre la trachée de la lapine et l'on y introduit 12 gouttes de sang pris dans le cœur du cobaye mort, à l'aide d'une pipette en verre stérilisée. (L'examen du sang a démontré qu'il contenait une grande masse de bactéridies du charbon.) Les bords de la plaie, couverte d'une croûte sèche, sont lavés à l'acide phénique au vingtième, et l'ouverture trachéale est couverte d'un morceau d'ouate sèche. La lapine est morte dans la nuit du 11 au 12 avril.

A l'autopsie, on trouve de grands foyers de pneumonie dans les deux poumons, de l'œdème du tissu cellulaire du cou et du médiastin, et un exsudat séreux dans les plèvres et le péricarde. Le sang, pris dans le cœur, contenait une quantité de bactéridies du charbon qui se coloraient admirablement bien par la méthode de Gram. Le suc du poumon contenait également une masse de ces bacilles dont une grande partie se colorait moins bien, quelques-uns ne se colorant pas du tout. Cette différence dans l'intensité de coloration des bacilles contenus dans le sang et de ceux du poumon, était aussi très marquée lorsqu'on employait le bleu de méthyle. En plus, dans le suc du poumon, on trouvait beaucoup de petits bacilles qui ressemblaient un peu aux bacilles de la septicémie des souris.

A l'examen microscopique du poumon, à côté des phénomènes ordinaires de la pneumonie, j'ai trouvé les deux espèces de bacilles que nous avons signalés dans le suc du poumon. Les vaisseaux contenaient une quantité de bactéridies du charbon; par place, ces bacilles ne se coloraient pas du tout (par la méthode de Gram et de Weigert), tandis que dans d'autres

endroits la coloration des bacilles était tout à fait normale. Les bacilles étaient très rares dans les alvéoles, et encore y étaient-ils absorbés par les macrophages et présentaient-ils des phénomènes de dégénérescence, dont nous reparlerons à l'occasion de notre deuxième cas où ces phénomènes étaient bien plus accusés. En revanche, les alvéoles contenaient de gros amas de petits bacilles, dont nous avons déjà parlé, et qui se coloraient parfaitement avec le procédé de Gram-Weigert. Une partie de ces bacilles était libre, une autre était enveloppée, absorbée par les macrophages. Dans ce cas, nous rencontrons le même phénomène de l'insensibilité de certains bacilles du charbon à la coloration, fait qui a déjà été constaté par Buchner dans ces cas de pneumonie charbonneuse. Pour Buchner, ce fait démontre que ce n'est pas seulement la phagocytose qui tue les bacilles dans le poumon, mais que les liquides du poumon, modifiés par un processus inflammatoire, jouissent également de cette propriété. Dans notre cas, où il existait une infection double, il est plus naturel d'expliquer ce phénomène par l'action des produits de sécrétion de la seconde espèce de bacilles, sur les bacilles du charbon.

Expérience II. — De même que dans l'expérience précédente, un cobaye est infecté du charbon, et une fois l'animal mort, son sang, contenant une grande quantité de bacilles du charbon tout à fait normaux et se colorant bien, est introduit dans la trachée d'un lapin. Cette fois la quantité de sang introduit fut de 14 gouttes, et le lapin a succombé 2 jours après l'opération. A l'autopsie, on trouve de l'œdème du tissu cellulaire du cou et du médiastin, un exsudat dans les plèvres et le péricarde, des foyers de pneumonie dans le lobe moyen, à droite, et dans les lobes inférieurs des deux poumons. A l'examen microscopique, on a trouvé une grande quantité de bactéridies du charbon tout à fait libres dans les vaisseaux, et se colorant d'une façon tout à fait normale par la méthode de Gram-Weigert. Les alvéoles contenaient peu de bactéridies, et encore ces dernières étaient-elles absorbées par les macrophages et présentaient-elles les signes d'une dégénérescence à des degrés différents. On y trouvait des bacilles qui étaient gonflés, un peu plus pâles qu'à l'état normal; il y en avait qui ne se coloraient que sur les bords, tandis que le milieu restait non coloré; d'autres étaient très minces, à bords iné-

gaux, rongés en quelque sorte (Pl. V, fig. 3 et 4). On en voyait enfin qui étaient parfois tellement désagrégés, que la disposition des granulations en série et la présence des formes intermédiaires permettaient seules de conclure que ces granulations étaient des restes de bacilles.

Nous avions donc ici une lutte, non sans succès, entre les phagocytes du poumon et les bactéridies du charbon; si l'animal n'en est pas moins mort, nous devons attribuer ce résultat à la multiplication rapide des bacilles à l'intérieur des vaisseaux. Il est difficile de dire si les bacilles ont pénétré dans les vaisseaux à travers les alvéoles ou à travers les bords de la plaie trachéale, par infection locale. Pourtant cette seconde voie nous paraît bien plus probable, si nous voulons bien nous rappeler que chez l'animal il a existé un œdème très prononcé du tissu cellulaire du cou.

Le fait de la destruction rapide des bacilles par les phagocytes du poumon explique d'une façon tout à fait naturelle les résultats négatifs obtenus par Morse, Buchner, Hildebrandt, dans leurs expériences sur l'introduction des bacilles du charbon dans les poumons des animaux.

Pour le rouget des porcs, nous avons fait en tout sept expériences. Dans trois de ces expériences, les lapins qui ont subi l'introduction dans la trachée des cultures sur bouillon de ce microbe, ainsi que les lapins témoins à qui les cultures ont été introduites par injection sous-cutanée, sont restés vivants. Une injection sous-cutanée de la même culture, faite à un pigeon, a tué l'animal. Dans les quatre autres expériences, les animaux étaient sacrifiés à des intervalles variables après l'introduction des microbes dans la trachée. Les quantités de culture introduites ont été de 15, 63, 80 et 120 gouttes. Les lapins ont été tués le 4e, 3e et 2e jour après l'injection; dans la 4e expérience, l'animal a été sacrifié 4 heures après. Dans tous les cas, excepté dans le premier, les poumons présentaient des lésions de pneumonie plus ou moins prononcées. Ces lésions ont été surtout marquées chez les lapins 2 et 4 qui avaient déjà subi auparavant (6 jours pour le lapin 2 et 21 jours pour le lapin 4) une injection intratrachéale de ces cultures, et qui l'avaient facilement supportée. Chez les lapins 1 et 3, la recherche des bacilles du

rouget dans les poumons a donné des résultats tout à fait négatifs; chez les lapins 2 et 4, on en trouvait encore dans les poumons, mais tous les bacilles étaient contenus dans les macrophages. et il n'en existait pas de libres. Sous ce rapport, le dernier cas est particulièrement intéressant en ce sens que 4 heures après l'introduction dans la trachée d'une grande quantité de culture, on ne trouvait plus que des bacilles isolés, et encore ceux-ci étaient-ils déjà absorbés par les macrophages.

Dans le second cas, les phénomènes inflammatoires étaient très prononcés. Les alvéoles pulmonaires abondaient en cellules de toutes formes, en commençant par les lymphocytes et en finissant par les gros macrophages épithélioïdes et les cellules géantes. Le nombre de ces dernières était considérable, et, entre celles-ci et les lymphocytes, on trouvait toutes les formes intermédiaires (Pl. VI, fig. 5, 6 et 7). Quelques-uns des macrophages et des cellules géantes contenaient à leur intérieur des bacilles du rouget. Dans les vaisseaux fortement dilatés, on était également frappé de la quantité de leucocytes et, surtout, de macrophages de dimensions moyennes: ces derniers tout à fait identiques à certains macrophages qu'on rencontrait dans les alvéoles.

Nous voyons donc que l'introduction dans les poumons du lapin des cultures du rouget du porc provoque l'apparition, chez l'animal, des processus inflammatoires : les alvéoles se remplissent d'éléments cellulaires qui atteignent ici des dimensions énormes, absorbent les bacilles introduits et finissent par les détruire. L'absorption par les cellules se fait avec une telle rapidité, que 4 heures après l'introduction des bacilles dans la trachée on les trouvait, dans les poumons, tous contenus dans les macrophages. Ici encore nous voyons que la destruction des microbes pathogènes qui ont pénétré dans les alvéoles pulmonaires se fait par l'intermédiaire des cellules, et, principalement, par l'intermédiaire de gros macrophages. Ces cellules contiennent fréquemment du pigment et sont identiques aux cellules à poussière. Dans le chapitre suivant, nous nous proposons d'étudier l'origine de ces cellules.

II

DE L'ORIGINE DES MACROPHAGES ET DES CELLULES PIGMENTAIRES DU POUMON.

La question de l'origine des macrophages du poumon, qu'avec Ins on appelle encore cellules à poussière (*Staubzellen*) lorsqu'ils contiennent des particules de poussières absorbées, a depuis longtemps intéressé les observateurs. Et ceci d'autant plus que la présence de ces cellules dans les crachats était considérée comme ayant une grande valeur clinique et diagnostique. Cette question avait été résolue de différentes façons en rapport avec les diverses théories régnantes. Virchow (13) attire l'attention sur la présence du pigment dans les cellules épithéliales et « catharrales ». Knauff (14) décrit deux formes de cellules contenant de la suie : des cellules volumineuses qu'il fait dériver des cellules caliciformes desquamées des bronches, et des petites cellules qui procéderaient, d'après lui, de l'épithélium alvéolaire. Knauff voit une confirmation de cette théorie dans ce fait que, dans ses expériences, il trouvait de ces cellules qui ne s'étaient pas encore séparées de la paroi des alvéoles, ou, plutôt, qui siégeaient encore sur ces parois. Les recherches de Slaviansky (15) ont fortement ébranlé cette théorie. Par ses expériences sur l'introduction dans la trachée du cinabre, du bleu d'outremer, de l'indigo, du charbon en poussière, Slaviansky est arrivé à conclure que les cellules pigmentaires ne provenaient pas seulement de l'épithélium. D'après lui, l'épithélium est capable d'absorber ces corps en poussière sans subir pour cela des modifications bien importantes ; quant aux cellules à poussière libres qu'on rencontre dans les alvéoles, elles procéderaient des leucocytes qui ont émigré hors des vaisseaux. En injectant du cinabre dans une veine, Slaviansky retrouvait dans les alvéoles pulmonaires des cellules contenant des particules de cinabre, et de cette façon il arrivait à démontrer l'origine leucocytique, au moins, de certaines cellules pigmentaires. Ins (16) a déjà une tout autre opinion sur ces cellules à poussière, et il ne reconnaît pas à l'épithélium le moindre rôle dans leur formation. Il a notamment observé, dans les alvéoles, l'absorption du pigment par des cellules qui ressemblaient fortement aux leucocytes : ces cellules augmentaient de dimensions,

se gonflaient et prenaient l'aspect habituel de grosses cellules pigmentaires.

Avec Ruppert (17) nous revenons de nouveau à l'ancienne théorie. D'après ses expériences sur de jeunes chiens (l'âge n'est pas indiqué), auxquels il faisait aspirer la suie d'une lampe, Ruppert arrive à la conclusion que c'est l'épithélium qui absorbe les particules de charbon. Quant à l'émigration des leucocytes que Slaviansky a notée dans ses expériences, Ruppert y voit le résultat de l'irritation causée par l'introduction dans la trachée des poussières en suspension dans un liquide, les conditions de l'expérimentation différant trop, dans ce cas, de l'état normal.

Schottelius (18) accepte une double origine pour les cellules à poussière, qui d'après lui pourraient provenir de l'épithélium et des leucocytes. Arnold (3) décrit également deux espèces de cellules à poussières : les unes plus petites, lymphoïdes, les autres épithéliales. D'après lui, ces dernières seraient plus volumineuses, aplaties, avec un grand noyau clair. Quelquefois il a rencontré des particules de suie dans des cellules qui ne s'étaient pas encore détachées de la paroi alvéolaire.

Enfin, Fleiner (19) a fait paraître tout dernièrement un travail à ce sujet. De ses expériences où il introduisait, à travers la trachée, dans le poumon, du sang et de l'encre de Chine délayés dans une solution physiologique de chlorure de sodium, il conclut que des particules d'encre de Chine peuvent encore, mais d'une façon tout à fait exceptionnelle, être absorbées par l'épithélium, tandis que les hématies ne le seraient jamais.

Nous avons donc en somme trois théories concernant l'origine des cellules à poussière. Tandis que les uns n'admettent que leur origine épithéliale, les autres ne reconnaissent que leur nature purement leucocytique, et enfin les derniers admettent une origine mixte, à la fois épithéliale et lymphoïde. Tous les observateurs, à l'exception d'Ins, reconnaissent à l'épithélium pulmonaire la propriété d'absorber les poussières étrangères, de même que la plupart d'entre eux admet que les cellules épithéliales se détachent des parois alvéolaires, se gonflent et deviennent cellules pigmentaires. Mais sur quoi en somme est basée cette conclusion? D'une part les observateurs s'appuient sur la ressemblance morphologique qui existe entre les cellules à poussière et les cellules épithéliales. Et en réalité, la ressemblance

entre ces cellules et les cellules épithéliales aplaties de la cavité buccale, par exemple, est très grande. Mais si l'on compare les cellules à poussière aux cellules de l'épithélium alvéolaire de l'homme ou des animaux qui ont servi à ces expériences (lapins, cobayes, etc.), on s'aperçoit que la ressemblance entre ces deux espèces de cellules n'est pas bien accusée.

D'après les recherches d'Elenz (20), d'Ebert (21), de Kuttner (22), de Verraguth (23), de Feuerstack (24) et d'autres observateurs, l'épithélium du poumon se compose de grosses plaques polygonales dépourvues de noyaux, et de cellules plus petites à noyaux, ces dernières implantées en quelque sorte entre les premières.

Entre les plaques sans noyaux et les cellules à poussière, il n'existe aucune ressemblance; quant aux petites cellules épithétiales à noyaux, la différence entre elles et les cellules à poussière n'est pas moins grande qu'entre ces dernières et les gros leucocytes à un seul noyau (les macrophages du sang), qu'on rencontre dans les vaisseaux, de telle sorte qu'il paraît tout à fait inadmissible de vouloir préjuger la nature des cellules à poussière d'après leur seule forme épithélioïde.

Un autre argument mis en avant par beaucoup d'observateurs, en faveur de la propriété de l'épithélium d'absorber la poussière, est le suivant : dans les alvéoles, on trouve des cellules contenant des poussières ou de la suie, et ces cellules continuent à siéger sur la paroi alvéolaire. Mais nous ne devons pas oublier qu'un leucocyte, émigré dans une alvéole, peut siéger sur la paroi alvéolaire et simuler parfaitement une cellule épithéliale. A l'exception de Ruppert, la plupart des observateurs ont expérimenté sur des animaux adultes, dont les alvéoles pouvaient contenir déjà des cellules à poussière tout à fait formées, ainsi que des leucocytes nouvellement émigrés capables d'absorber les poussières étrangères. Sous ce rapport, les expériences de Ruppert sur de jeunes chiens auraient pu être bien plus décisives; malheureusement il n'a pas noté l'âge de ses chiens, et de plus, ses recherches ont été faites à une époque où la connaissance des différentes formes de leucocytes n'était encore que fort imparfaite.

Les travaux d'Ehrlich et de Metchnikoff, qui ont élargi et complété nos connaissances sur les leucocytes, obligent à revoir

et à refaire bien des pages de pathologie. Au nombre de ces questions à revoir vient se placer la question de la propriété de l'épithélium d'absorber les poussières étrangères, question qui paraissait pouvoir être résolue d'une façon si simple.

Pour voir si l'épithélium alvéolaire possède des propriétés phagocytiques, nous avons entrepris une série d'expériences sur des cobayes nouveau-nés, sur des grenouilles et sur des poissons. On sait que la vessie natatoire des poissons possède une couche épithéliale qui, au point de vue embryologique, correspond à l'épithélium pulmonaire. La structure si simple de la vessie natatoire, l'absence de pigment, et la grande accessibilité de cet organe, le rendaient tout à fait propre aux recherches que nous nous proposions. Les expériences sur les poissons ont été faites de la façon suivante : à l'aide d'une seringue de Pravaz, on injectait dans la vessie natatoire de l'encre de Chine ou du carmin, en suspension dans une solution physiologique de chlorure de sodium (à 0,7 p. 100). Les poissons étaient ensuite sacrifiés à des intervalles variables après l'opération. Pour nos expériences nous nous sommes servis des variétés de cyprinides connus sous le nom de « carpe-carasson ». Il est assez facile d'arriver jusqu'à la vessie natatoire, si l'aiguille de la seringue de Pravaz est introduite le long de la ligne latérale, un peu en avant de l'extrémité antérieure de la grande nageoire dorsale. Le poisson une fois sacrifié au bout d'un certain temps, je lacérais la vessie que j'ouvrais et lavais avec beaucoup de précautions, pour enlever de la surface interne le résidu de la substance introduite. La surface épithéliale était ensuite passée au nitrate d'argent (solution de 1 p. 100), et pour obtenir la solidification de la pièce on la mettait dans l'alcool; les coupes étaient colorées avec de l'hématoxyline ou de la vésuvine.

Sur des coupes préparées de cette façon, l'épithélium de la vessie apparaissait sous forme d'une couche continue de cellules aplaties, polygonales, divisées par de lignes brun foncées et contenant de gros noyaux ronds faiblement colorés en violet (hématoxyline). Bien que le carmin fût resté sur la surface épithéliale de la vessie plus de 4 jours, les cellules épithéliales ne contenaient pas trace de cette substance; mais dans la profondeur des tissus on rencontrait des grains de carmin, tantôt libres, tantôt contenus à l'intérieur des cellules migratrices. De cette

façon, mes expériences sur l'épithélium de la vessie natatoire des poissons ne m'ont donné que des résultats absolument négatifs, les cellules épithéliales s'étant montrées complètement dépourvues de propriétés phagocytiques.

Nous allons passer maintenant aux expériences sur des grenouilles. Schottelius introduisit du cinabre dans les poumons des grenouilles. En examinant les crachats expulsés dans les accès de toux par ces animaux, il a trouvé, parmi les cellules différentes dont se composaient ces crachats, de grosses cellules gonflées, à noyaux volumineux, contenant du cinabre. Ces cellules se rencontraient également dans les alvéoles pulmonaires, en partie libres, en partie siégeant sur la surface des parois. Schottelius affirme avoir pu suivre les formes intermédiaires entre ces cellules et les cellules épithéliales du poumon. Schestopal (25), qui a reproduit ces expériences, a observé la pénétration directe des pigments introduits, dans les poumons, dans les espaces lymphatiques, à travers les fentes ou stomates qui existent entre les cellules épithéliales. Il croit possible l'absorption de grains pigmentaires par l'épithélium, mais il ne l'a jamais observée.

Dans mes expériences, j'introduisais dans les poumons des grenouilles, à l'aide d'une pipette en verre, du carmin finement pulvérisé et en suspension dans une solution physiologique de chlorure de sodium. Pour l'examen, les poumons excisés étaient soumis à l'action d'une solution de nitrate d'argent au 500e qu'on versait dans la trachée, étendus ensuite sur une lame de verre et colorés à la vésuvine ; ou bien, ils étaient préalablement soumis à l'action de l'alcool qui les solidifiait, pour être montés ensuite dans de la paraffine. Aussi bien sur les poumons étalés que sur les coupes de cet organe, on pouvait se convaincre que l'épithélium alvéolaire n'absorbait pas de carmin. Sur les coupes, on voyait que le carmin pénétrait assez rapidement dans les espaces lymphatiques, dans les cloisons qui séparent les chambres à air, improprement appelées alvéoles, et que la plus grande partie de la substance colorante y restait libre, bien qu'on trouvât des cellules migratrices contenant du carmin. Quant à l'épithélium de ces alvéoles, il ne contenait pas trace de carmin. En sacrifiant les grenouilles même au 5e jour après l'opération, je n'en trouvais pas moins des quantités de substance colorante libres dans les sacs alvéolaires et dans les fentes lymphatiques.

Pour étudier la même question chez des mammifères, j'ai fait une série d'expériences sur des cobayes nouveau-nés. Pour me familiariser préalablement avec les propriétés normales des poumons de ces animaux, j'ai successivement examiné les poumons d'un cobaye né avant terme, mais ayant déjà respiré; ceux d'un cobaye à terme, une heure après sa naissance ; ceux d'un cobaye de vingt-quatre heures, et finalement ceux d'un cobaye de six jours. Chez tous ces cobayes, les alvéoles pulmonaires ne contenaient guère de leucocytes de n'importe quelle espèce. Déjà chez les cobayes nouveau-nés, l'épithélium alvéolaire se présente comme composé principalement de minces plaques polygonales dépourvues de noyaux et de volume différent; ces plaques sont, en plus, séparées par des lignes plus ou moins régulières colorées en brun par le nitrate d'argent. (Pl. VII, fig. 8.) Très souvent ces cellules paraissent posséder un noyau, mais un examen attentif ne tarde pas à faire voir, dans la plupart des cas, que ces noyaux sont situés sous la couche des plaques épithéliales, et qu'ils appartiennent en partie à l'endothélium du capillaire, en partie aux cellules du tissu conjonctif. Ceci est d'autant plus évident que très souvent les lignes qui séparent les plaques épithéliales passent à travers ces noyaux, et que les noyaux eux-mêmes sont disposés de préférence dans les parties qui avoisinent les capillaires. Les petites cellules épithéliales à noyaux qui ont été décrites par Elenz, Ebert et autres, et qui, d'après ces auteurs, seraient implantées entre les plaques épithéliales dépourvues de noyaux, se rencontrent chez les jeunes cobayes en nombre fort restreint. Dans la plupart des cas, lorsqu'il nous arrivait d'obtenir une paroi alvéolaire bien conservée, bien imprégnée de nitrate d'argent et bien colorée (hématoxyline), ces cellules ne se faisaient pas voir, et les rares noyaux qu'on rencontrait parfois appartenaient, d'une façon tout à fait évidente, aux cellules des capillaires et du tissu élastique des trabécules. L'absence de cellules pigmentaires complètement formées dans les alvéoles des animaux nouveau-nés, les rend particulièrement commodes pour l'étude de la question qui nous intéresse, à savoir, les origines des gros macrophages alvéolaires, autrement dit cellules à poussière, et les propriétés de l'épithélium alvéolaire d'absorber les poussières étrangères.

Les expériences faites ont été de deux sortes. Dans les

unes, je faisais aspirer de la suie à l'animal; dans les autres, j'introduisais du carmin dans les alvéoles, en employant la voie trachéale. Pour l'aspiration de la suie, je me suis servi d'une grande cloche en verre. Le cobaye était placé dans la partie supérieure de la cloche, dans un panier en fil de fer à larges mailles, posé sur un trépied ; quant à la lampe à benzine qui fumait, elle était mise dans la partie inférieure de la cloche. La ventilation se faisait à travers une fente ménagée entre les bords de la cloche et le plancher. Quelques minutes après l'introduction de la lampe, l'atmosphère de la cloche était remplie de suie. Les séances d'aspiration avaient une durée de deux heures. Pour ces expériences, je prenais des cobayes qui venaient de naître, et pour tuer ces animaux, à des intervalles différents après la séance, je me servais de chloroforme. Aussitôt après la mort, les poumons excisés étaient remplis d'alcool à 96° qu'on versait par la trachée, et tout l'organe était également plongé dans l'alcool. Quelquefois les poumons, avant d'être mis dans l'alcool, étaient soumis à l'action du nitrate d'argent d'après la méthode de Chrjonschtchewski. Une fois l'organe solidifié, on en coupait des morceaux qu'on mettait dans de la paraffine ; ces coupes étaient colorées à l'hématoxyline.

Comme exemple nous allons décrire l'expérience suivante.

Le 22 avril, entre midi et 6 heures du soir, 4 cobayes sont nés. Deux sont mis sous la cloche à 6 heures 3/4 ; l'un est retiré à 8 heures 30 (au bout de 1 heure 45 minutes) et tué aussitôt par les vapeurs de chloroforme. Le second est resté sous la cloche jusqu'à 8 heures 45 minutes et est tué 14 heures après. Le troisième cobaye est soumis à une séance d'aspiration de 2 heures, 24 heures après sa naissance ; il est tué une heure après la fin de l'expérience. Le quatrième cobaye n'était pas soumis aux expériences d'aspiration, mais il a été sacrifié en même temps que le 3e pour pouvoir servir de terme de comparaison. Chez le premier cobaye, tué aussitôt que l'expérience d'aspiration fut finie, les alvéoles contenaient une quantité assez considérable de suie qui était disposée sur les parois des alvéoles. Nulle part on ne voyait de suie absorbée par les cellules épithéliales. et les poumons, en général, ne présentaient aucun phénomène de réaction.

Chez le second cobaye, tué 14 heures après la séance d'aspiration, la plus grande partie de la suie était encore libre dans la

cavité des alvéoles où elle était disposée sur les parois ; mais une autre partie avait déjà pénétré dans les fentes lymphatiques et dans les follicules lymphatiques péribronchiques et périvasculaires. Ici également l'épithélium alvéolaire n'avait pas absorbé la suie, mais il était en quelque sorte enduit de cette substance. Pourtant, dans la cavité de l'alvéole, on rencontrait déjà des phagocytes pleins de suie. Ces phagocytes se présentaient sous forme de leucocytes à noyaux multiples, ainsi que sous celle de lymphocytes et de macrophages à noyau unique et à protoplasma n'ayant pas encore atteint de dimensions considérables. Dans les fentes et dans les follicules lymphatiques dont nous avons déjà parlé, le nombre de phagocytes contenant de la suie était bien plus considérable. Dans les vaisseaux pulmonaires, l'attention était surtout attirée par le nombre considérable de leucocytes, parmi lesquels se trouvaient des lymphocytes et des macrophages tout à fait identiques à ceux qu'on rencontrait dans les alvéoles et les espaces lymphatiques.

Ce qui distinguait les poumons du troisième cobaye de ceux du premier, c'était la présence, rare, il est vrai, dans les alvéoles et dans le tissu du poumon, de leucocytes isolés contenant de la suie, et l'accroissement assez appréciable du nombre des leucocytes dans les vaisseaux. qui de temps en temps contenaient déjà des macrophages. Chez le quatrième cobaye qui nous a servi pour contrôler les expériences faites sur le troisième, les cavités des alvéoles ne contenaient pas de cellules, et les poumons en général étaient tout à fait normaux.

Chez un autre cobaye nouveau-né, qui pendant 2 jours a subi 2 séances (de 2 heures chacune) d'aspiration de suie, et qui n'a été sacrifié que 24 heures après la seconde séance, les modifications constatées ont été bien plus marquées. Ici également nous trouvions de la suie salissant en quelque sorte les parois des alvéoles, sans trace d'absorption de cette substance par l'épithélium (pl. VII, fig. 9). Mais en même temps on trouvait dans les cavités des alvéoles, comme dans le tissu même du poumon, une quantité assez considérable de cellules contenant de la suie. Parmi ces phagocytes pleins de suie, on rencontrait des leucocytes à noyaux multiples, des macrophages à noyau unique, et de grosses cellules épithélioïdes rappelant exactement les cellules pigmentaires ordinaires (pl. VII, fig. 10, 11, 12, 13 et 14).

Dans les expériences suivantes, les animaux ont été sacrifiés 6, 8 et 21 heures après la séance d'aspiration. Ici encore les phénomènes étaient essentiellement les mêmes. D'abord, la plus grande partie de la suie reste libre dans les alvéoles et pénètre en partie dans les espaces lymphatiques; plus tard, commence l'absorption de la suie par les leucocytes, cette absorption se faisant en partie dans les espaces et les follicules lymphatiques, en partie dans les cavités mêmes des alvéoles. Au début, les leucocytes à noyau unique qui pénètrent dans la cavité de l'alvéole, n'ont pas de dimensions considérables (lymphocytes); plus tard on rencontre de grosses cellules riches en protoplasma et ayant pris une forme plus ou moins aplatie. Très souvent ces cellules se disposent le long des parois des alvéoles, s'étendent en quelque sorte de façon à pouvoir être prises facilement pour des cellules épithéliales, si le développement et les origines de ces cellules ne nous étaient pas connus. Quant à l'épithélium, il ne réagit en aucune façon contre la suie qui le couvre, et nulle part il ne nous a été possible de constater des phénomènes de prolifération du côté des cellules épithéliales.

Arnold, dans ses expériences à longue durée d'aspiration de la suie, a observé que les premiers jours c'est la forme épithélioïde des cellules pigmentaires qui prédominait, et ce n'est que plus tard que la forme lymphoïde devenait prépondérante. (Arnold, *l. c.*, p. 19.) Du reste, déjà *a priori* on devait s'attendre à ce résultat, si, bien entendu, l'épithélium était capable d'absorber la suie. Mais dans nos expériences nous avons constaté juste le contraire de ce qu'avance Arnold : nous avons vu qu'au début c'étaient des lymphocytes, de petits macrophages et des leucocytes à noyaux multiples qui pénétraient dans les alvéoles et absorbaient la suie; ce n'est que plus tard que ces éléments cellulaires s'hypertrophiaient et affectaient ensuite la forme épithélioïde. La contradiction n'est du reste qu'apparente et s'explique parfaitement par ce fait que, chez Arnold, l'expérience d'aspiration la plus courte ne durait pas moins de 4 jours. Or, il résulte de nos expériences qu'il suffit de deux jours pour que les lymphocytes émigrés hors des vaisseaux, ou les macrophages de petit volume, se transforment en grosses cellules épithélioïdes. Quant à la prédominance ultérieure des lymphocytes dans les expériences d'Arnold, elle peut être expliquée par

l'émigration trop intense qui fait que la quantité relative des leucocytes hypertrophiés, des macrophages, diminue en comparaison du nombre d'éléments cellulaires de petites dimensions qui continuent toujours à arriver.

Les expériences avec introduction, dans les poumons des cobayes nouveau-nés, du carmin en poudre suspendu dans une solution physiologique de chlorure du sodium, ont donné lieu aux mêmes phénomènes que dans les expériences précédentes. Nous avons pourtant quelques particularités à noter. Chez un cobaye mort 24 heures après l'injection (seringue de Pravaz) de carmin dans la trachée, nous avons trouvé que la plus grande partie du carmin était encore libre dans les cavités des alvéoles, et qu'une plus petite partie avait déjà pénétré dans les fentes lymphatiques des tissus. Contrairement à ce que nous avons observé dans les expériences avec la suie, le carmin occupait la partie centrale des alvéoles, et ce fait nous paraît dû à ce que le carmin suspendu dans un liquide ne peut pas s'attacher aussi parfaitement aux parois alvéolaires que le fait la suie. Ici également l'épithélium n'avait pas absorbé les particules de carmin. Dans les alvéoles et dans le tissu même des parois, on rencontrait un nombre assez considérable de cellules contenant du carmin. Dans la plupart des cas c'étaient des leucocytes à noyaux multiples; on en rencontrait pourtant d'autres ne contenant qu'un seul noyau. Les macrophages volumineux y étaient rares.

Pour compléter ces expériences, nous avons encore reproduit celle de Slaviansky, que nous avons modifiée de la façon suivante. Après avoir injecté dans la veine jugulaire d'un lapin, du carmin en suspension dans une solution physiologique de chlorure de sodium, nous injections dans la trachée du même animal 80 gouttes d'une culture du rouget des porcs, et l'animal était sacrifié 24 heures après. Cette expérience a été faite en vue d'obtenir des macrophages épithélioïdes contenant en même temps, simultanément, des bacilles du rouget et des particules de carmin. Nous n'avons pas réussi à obtenir ce résultat, mais, par places, nous avons trouvé, dans les alvéoles, des leucocytes contenant du carmin et, parmi eux, des macrophages épithélioïdes typiques qu'on aurait facilement pris pour de l'épithélium desquamé, si la véritable origine de ces cellules n'était pas trahie par leur contenu (voy. pl. VII, fig. 15 et 16).

Il résulte de toutes ces expériences que dans la défense de l'organisme contre les microbes pathogènes qui pénètrent dans le poumon, les éléments cellulaires du poumon, les phagocytes pulmonaires, jouent un rôle très important. Le degré de résistance de l'organisme dépend en grande partie des relations qui existent entre telle ou telle espèce de microbes et les phagocytes pulmonaires, parmi lesquels les macrophages pulmonaires, et les cellules géantes jouent le rôle de champions principaux. Dans une maladie aussi meurtrière pour les lapins que le choléra des poules, les macrophages, bien qu'en grand nombre, n'absorbent presque pas de bacilles et n'empêchent, par conséquent, ni leur multiplication, ni le développement de leur action pathogène. Dans le charbon, les macrophages absorbent et détruisent très énergiquement, dans les alvéoles, les bactéridies qui ont été introduites. Enfin dans le rouget des porcs, ce sont les phagocytes qui restent victorieux : quelques heures après l'introduction dans le poumon des bacilles du rouget, ils sont déjà absorbés par les macrophages, et au bout de quelques jours on n'en peut plus trouver dans le poumon.

Nos autres expériences qui ont été faites pour voir d'une part si l'épithélium du poumon possède des propriétés phagocytiques, et pour élucider d'autre part la question de l'origine des gros macrophages du poumon, nous ont amené à cette conclusion que ni l'épithélium de la vessie natatoire des poissons, qui est analogue à celui du poumon, ni l'épithélium des chambres à air des poumons des grenouilles, ni celui des alvéoles des cobayes nouveau-nés, ne possédaient de propriétés phagocytiques. Quant à l'origine des gros macrophages des poumons, nous avons vu qu'ils procédaient des leucocytes à noyau unique. Il est évident que ces leucocytes ne deviennent capables d'absorber les microbes pathogènes qu'après avoir atteint certaines dimensions, un certain degré de développement. Les lymphocytes et les macrophages de petites dimensions, tels que nous les avons souvent rencontrés dans les vaisseaux, ne possèdent pas encore de propriétés phagocytiques, et il faut supposer que dans le tissu pulmonaire ils trouvent un milieu particulièrement favorable à leur développement ultérieur, ce qui se manifeste par l'augmentation considérable de leurs dimensions. Ce n'est qu'à cette époque qu'ils deviennent les adversaires de beaucoup de

microbes pathogènes, tels que le bacille du rouget, le *staphylococcus pyogenes aureus*, et même la bactéridie charbonneuse.

En terminant ce travail, qu'il me soit permis d'exprimer toute ma gratitude à M. le professeur E. Metchnikoff, pour m'avoir proposé ce sujet d'études, pendant lesquelles j'ai eu souvent recours à son obligeance et à ses indications.

Je remercie également M[me] O. Metchnikoff pour ses précieux conseils au sujet de la technique histologique.

EXPLICATION DES FIGURES

Pl. VI. Fig. 1. Lapin mort après l'introduction dans le poumon d'une culture de bacilles du choléra des poules. — *a*, Gros macrophages du poumon parsemés de bacilles du choléra non absorbés. — *b*, Leucocytes à noyaux multiples qui ne sont pas entourés de bacilles et qui ne les contiennent pas. Zeiss. obj. 1/18. Imm. homog., oc. 3.

Fig. 2. Macrophage entouré de bacilles du choléra des poules et qui en contient des groupes dans son protoplasma. Même obj., oc. 3.

Fig. 3. Charbon. Une alvéole contenant des macrophages épithélioïdes (*a*), à l'intérieur desquels on voit des bactéridies (*b*) en état de dégénérescence. Dans les parois des alvéoles on voit des bactéridies tout à fait normales (*c*), situées dans des vaisseaux. Même obj., oc. 2.

Fig. 4. Macrophages épithélioïdes contenant des bactéridies du charbon dégénérées. Même obj., oc. 3. Méthode de colorat. de Weigert.

Fig. 5. Rouget des porcs. Contenu des alvéoles. — *a*, Macrophages épithélioïdes contenant des bacilles du rouget absorbés. — *b*, Macrophages de dimensions moindres ne contenant pas de bacilles. — *c*, Lymphocytes. — *d*, Leucocytes à noyaux multiples. Même obj., oc. 2. Color. méth. Kuhne, hématoxyline, fuchsine, auramine.

Fig. 6. Gros macrophage contenant une masse de bacilles du rouget. Même obj., oc. 3.

Fig. 7. Cellule géante, contenant des bacilles du rouget des porcs. Même obj., oc. 2.

Pl. VII. Fig. 8. Épithélium pulmonaire d'une alvéole d'un cobaye nouveau-né. Nitrate d'argent et coloration avec l'hématoxyline. Même obj., oc. 3.

Fig. 9. Parois des alvéoles enduites de suie. Le cobaye nouveau-né a subi deux séances d'aspiration et a été sacrifié 24 heures après la deuxième séance. Même obj., oc. 2.

Fig. 10. Même cobaye. Espaces lymphatiques contenant des leucocytes à noyaux multiples et des macrophages remplis de suie. Même obj., oc. 3.

Fig. 11. Un groupe de cellules contenant de la suie et, d'après leur disposition, pouvant simuler l'épithélium. Une de ces cellules peut servir de type pour un leucocyte à noyaux multiples; les autres sont des leucocytes à noyau unique. Même obj., oc., 3.

Fig. 12. Même cobaye. Vaisseau lymphatique contenant: — *a*, Macrophages pleins de suie. — *b*, Macrophage plein de suie et ayant absorbé un leucocyte à noyaux multiples. — *c*, Lymphocytes. Même obj., oc. 2.

Fig. 13. Même cobaye. Alvéole contenant : *a*, Gros macrophages épithélioïdes de dimensions variables; — *b*, Leucocytes à noyaux multiples.

Fig. 14. Même cobaye. Capillaire contenant : *a*, Macrophages épithélioïdes de dimensions moyennes et un leucocyte à noyaux multiples. Même obj., oc 3.

Fig. 15. Lapin qui a subi une injection intraveineuse de carmin. *a*, Gros macrophages épithélioïdes contenant du carmin. Même obj., oc. 3.

Fig. 16. Même lapin. Macrophage épithélioïde contenant du carmin et se trouvant sur la paroi de l'alvéole, de façon à simuler une cellule épithéliale desquamée. Même obj., oc. 3.

BIBLIOGRAPHIE

1. Flugge. *Die Microorganismen.* Leipzig, 1886.
2. Wyssokowitsch. *Arbeiten aus dem hygienisch. Institut zu Göttingen. Iahresbericht*, 1884-1885, de Flügge.
3. Arnold J. *Untersuchungen uber Staubinhalation und Staubmetastasen.* Leipzig, 1885.
4. Baumgarten et Bolte. Cité d'après Hildebrandt.
5. Morse. *Eingangspforten der Infectionsorganismen.* Dissert. Berlin, 1881.
6. Muskatbluth. *Neue Versuche über Infection von den Lungen.* Centralblatt f. Bacteriologie 1887, Bd. I, N° II.
7. Buchner. *Untersuchungen über den Durchtritt von Infectionserregern durch die intacte Lungenoberfläche.* Arch. f. Hygiene, Bd VIII.

Idem. *Verhandlungen d. siebenten Congress f. innere. Medicin.* 1888.

Idem. *Immunität und Immunisirung.* Münchener medic. Wochenschrift, Ntb. 2, 3, 1889.





8. HILDEBRANDT. *Experimentelle Untersuchungen über das Eindringen pathogener Microorganismen v. d. Luftwegen und d. Lunge.* Diss. Königsberg, 1888.

9. WYSSOKOWITSCH. III[e] Congrès des médecins russes à Saint-Pétersbourg. Janvier 1889.

10. FLECK. *Die acute Entzündung der Lunge.* Diss. Bonn, 1886.

11. RIBBERT. *Der Untergang pathogener Schimmelpilze im Körper.* Bonn, 1887.

12. LAEHR G. *Ueber den Untergang des Staphylococcus pyogenes aureus in den durch ihn hervorgerufenen Entzündungsprocessen d. Lunge.* Diss. Bonn, 1887.

13. VIRCHOW. *Ueber Lungenschwarz.* Virchow's Arch., t. XXXV.

14. KNAUFF. *Pigment der Respirationsorgane.* Virchow's Arch., t. XXXIV.

15. SLAWJANSKY. *Experimentelle Beitrage zur Pneumoconiosis-Lehre.* Virchow's Archiv., t. XLVIII, 1869.

16. VON INS. *Experimentelle Untersuchungen über Kieselstaubinhalation.* Arch. f. exper. Pathol., 1876, et Virchow's Archiv., t. LXXIII, 1878.

17. RUPPERT. *Exper. Untersuch. über Kohlenstaubinhalation.* Virchow's Archiv., t. LXXII.

18. SCHOTTELIUS. *Exp. Unters. über die Wirkung inhalirter Substanzen.* Virchow's Arch., t. LXXIII.

19. FLEINER. *Ueber d. Resorption corpuscul. Elemente durch Lunge und Pleura.* Virchow's Arch., t. CXII, 1888.

20. ELENZ. Würzburger naturwiss. Zeitschr., t. V, 1864.

21. EBERT. Ibidem.

22. KUTTNER. *Studien über d. Lungenepithel.* Virchow's Arch., t. LXVI, 1876.

23. VERAGUTH. *Ueber Veränderungen d. Lungenepithels bei künstlich hervorgeruf. pneumon. Processen.* Virchow's Arch., t. LXXXII, 1880.

24. FEUERSTACK. *Ueber das Verhalten des Epithels der Lungenalveolen bei d. fibrinös. Pneumonie.* Gotting, Preisschrift, 1882.

25. SCHESTOPAL. *Ueber die Durchlässigkeit der Froschlunge für gelöste und körnige Farbstoffe.* Virchow's Arch., t. LXXV, 1879.

RECHERCHES SUR LA VALEUR COMPARÉE DES NITRATES ET DES SELS AMMONIACAUX COMME ALIMENT DE LA LEVURE DE BIÈRE ET DE QUELQUES AUTRES PLANTES

Par E. LAURENT.

I

Parmi les substances qui peuvent concourir à l'alimentation azotée des végétaux, il faut citer en première ligne les nitrates et les sels ammoniacaux. On sait que beaucoup de champignons assimilent sans difficulté les sels ammoniacaux, et que les plantes vertes prospèrent dans des solutions minérales additionnées d'un nitrate. Mais on n'a pas de renseignements précis sur la valeur comparée de ces deux catégories de sels comme aliment des divers groupes végétaux.

Les expériences que l'on aurait pu tenter autrefois dans cette direction, auraient été entachées d'erreur par le fait des microbes, que l'on sait aujourd'hui être la cause de modifications profondes des combinaisons azotées. Il est donc absolument indispensable, dans des travaux de cette nature, d'éviter ces erreurs au moyen de cultures d'une pureté absolue. A ce point de vue, les organismes inférieurs sont sans contredit bien plus commodes que les plantes vasculaires, dont le développement à l'abri des infiniment petits est des plus difficiles à obtenir dans les expériences.

J'ai fait choix pour ces études de la levure de bière, d'un certain nombre de moisissures très communes, et de quelques plantes vasculaires.

Levures. — Pour ce qui est de l'aliment azoté des levures, on peut, pour résumer les anciens travaux, admettre que, de toutes les matières azotées de nature organique, les plus favo-

rables sont celles qui se trouvent à l'état soluble dans le jus des fruits et dans le moût de bière. Par leurs propriétés, elles se rapprochent des peptones et des amides. En même temps que les levures de vin et de bière assimilent ces substances, elles font une consommation considérable de sels ammoniacaux, ce qui a été mis en évidence par les recherches de M. Duclaux [1].

Ainsi que l'a montré M. Pasteur, il y a trente ans [2], la levure peut être cultivée dans un milieu exclusivement minéral additionné d'une substance sucrée. Quels sont dans ce cas les sels azotés qu'elle est capable de consommer?

Tandis que M. A. Mayer [3] indique l'assimilation des sels ammoniacaux comme beaucoup plus facile que celle des nitrates, Dubrunfaut [4] fut conduit à admettre la consommation des nitrates.

Dans le but de vérifier ces assertions, j'ai institué une série d'essais de culture dans la solution minérale suivante, additionnée d'acide tartrique à 1 p. 1000.

Eau.	1000
Phosphate de potassium	0,75 gr
Sulfate de magnésium.	0,1

J'y ai ajouté par litre 50 grammes de saccharose très pure et l'un des sels azotés que voici :

Sulfate d'ammoniaque. . .	4,71 gr.
Phosphate d'ammoniaque.	4,71
Nitrate de potassium. . . .	7,22
— de sodium.	6,07
Nitrite de potassium. . . .	6,07

Ces quantités sont équivalentes, c'est-à-dire, qu'elles introduisent des doses égales d'azote (1 gramme par litre) dans les différents mélanges.

J'ai mis 50^{cc} de ces solutions dans des matras de 250^{cc}, de manière à n'avoir qu'une couche liquide d'environ un centimètre

1. *Comptes rendus*, t. LIX, p. 450, 1864.
2. *Annales de chimie et de physique*, t. LVIII, 1859.
3. *Untersuchungen uber die alkoolische Gahrung*, 1869.
4. *Comptes rendus*, t. LXXIII, p. 263, 1871.

d'épaisseur assurant l'aération de la culture. Chaque matras renfermait 2gr,5 de saccharose. Pour évaluer l'effet de l'azote combiné apporté par le sucre, un essai fut établi sans addition de sel azoté au liquide nutritif.

Les six matras, après stérilisation à la vapeur à 100°, furent ensemencés le 2 mars 1888 avec une trace de levure de Bruxelles pure, et placés à la température de 12 à 15°. Cette température peu élevée avait pour but de ralentir le développement, afin de faciliter la pénétration de l'air et de favoriser la vie aérobie.

Dans la culture avec nitrite de potassium, rien ne s'est développé. La culture avec le sulfate d'ammoniaque a été la plus prospère pendant les trois premières semaines. Plus tard, le phosphate d'ammoniaque a pris le pas. Enfin, dans le matras témoin, il n'y avait qu'un dépôt très faible ; avec les nitrates, le résultat ne fut guère meilleur.

Le 13 mai, l'expérience fut arrêtée, les liquides de culture filtrés, les dépôts bien lavés et pesés.

Voici les poids de levure constatés :

Avec phosphate d'ammoniaque	0,174 gr.
— sulfate d'ammoniaque. .	0,110
— nitrate de sodium.	0,0174
— — de potassium. . .	0,011
— nitrite de potassium. . . .	0,000
Témoin.	0,009

La levure préfère donc d'une façon manifeste les sels ammoniacaux aux nitrates. Les nitrites ne sont pas assimilés ; même ils paraissent vénéneux.

Ne serait-il pas possible d'attribuer l'action peu utile des nitrates à leur transformation en nitrites dans la profondeur des liquides ou dans le protoplasme des cellules de la levure ? Pour que cette hypothèse soit admissible, il faut démontrer que la levure peut réduire les nitrates.

Je n'ai trouvé aucune trace de ce phénomène dans les cultures de levure faites en ne lui offrant, comme aliment azoté, que de l'azote nitrique ; mais cela pouvait tenir à ce que la levure y pousse péniblement. Il en est de même pourtant avec une solution de sucre à 5 et 10 0/0 additionnée de 1 0/0 de nitrate de potassium et d'eau de touraillons, qui est très nutritive. En

revanche, les résultats ont été tout différents dans les expériences suivantes.

J'ai préparé une solution minérale avec 6gr,07 par litre de nitrate de sodium et seulement 2,5 0/0 de saccharose. La liqueur traitée par le chlorure de naphtylamine et l'acide sulfoanilique ne donnait aucune trace de nitrites. La solution a été répartie dans des matras coniques remplis jusqu'au voisinage du goulot. Cette précaution rendait l'aération du liquide beaucoup moins facile. Après stérilisation, j'ai introduit dans ces matras des dépôts de levures récoltés dans des cultures en moûts sucrés, et absolument privés de bactéries.

Ces levures étaient :

Levure haute de Bruxelles,
— basse de Strasbourg,
— basse de vin de Champagne.
Mycolevure de M. Duclaux.

Les matras ont été placés à la température de 20-22°. Après deux jours la réaction des nitrites était des plus évidentes dans le matras avec la mycolevure ; elle était moins nette avec les trois autres levures. Cependant, au bout de huit jours, il n'y avait plus le moindre doute sur le pouvoir réducteur de ces levures vis-à-vis des nitrates [1].

1. Puisque les levures sont capables de réduire les nitrates, il est permis de se demander si elles peuvent décolorer les substances qui, comme le carmin d'indigo, ne résistent pas aux agents réducteurs. Des bactéries provoquent ce phénomène, ainsi que l'a indiqué autrefois M. Duclaux et plus récemment M. Raulin. Plusieurs essais ont été tentés dans des solutions de saccharose colorées par le carmin d'indigo. Malheureusement les sucres, surtout dans les solutions chauffées pour la stérilisation, détruisent rapidement la matière colorante; la décoloration se fait aussi à froid. Dans l'eau distillée, additionnée de carmin d'indigo, la décoloration n'a pas lieu. Si l'on y verse des dépôts de culture pure de levures, on ne tarde pas à constater une décoloration lente mais progressive. C'est ce que j'ai observé avec :

Levure de bière de Bruxelles,
— — de pale ale,
— — de Strasbourg,
— de vin de Champagne,
— — de Bourgogne,
Mycolevure.

La décoloration m'a paru continuer encore avec des levures tuées par la chaleur, de sorte que le phénomène est une propriété des matières organiques, plutôt qu'une propriété physiologique.

Les levures qui avaient servi à ces essais furent ensemencées dans des moûts sucrés ordinaires; leur vitalité n'était pas altérée.

Les levures peuvent donc réduire les nitrates, et on pourrait dès lors concevoir que si les nitrites sont en réalité toxiques pour elles, elles aient été amenées, par évolution, à préférer les sels ammoniacaux comme source d'azote inorganique.

Mais la question de la toxicité des nitrites est en réalité plus complexe qu'elle ne le paraît à première vue. Lorsqu'on fait divers essais de culture de la levure dans les liquides additionnés de nitrite de potassium, on obtient des résultats assez variables. Pour des doses égales, ce sel tantôt se montre vénéneux et tantôt est sans action nuisible sur la levure. Cela dépend de la réaction neutre ou acide du milieu de culture ; l'on observe ici des faits du même ordre que ceux qui ont été signalés récemment par MM. Lœw et Bokorny [1], pour l'action des nitrites sur les algues filamenteuses. Ce ne sont pas les nitrites qui sont nuisibles, mais bien l'acide nitreux, et ces sels deviennent vénéneux en présence d'un suc cellulaire qui met l'acide en liberté.

Cette assertion se trouve complètement vérifiée par la culture de la levure de bière. Ensemencée dans des liquides sucrés neutres et additionnés de nitrite de potassium à $\frac{1}{500}$, $\frac{1}{750}$, $\frac{1}{1000}$, $\frac{1}{2000}$, etc., elle s'y développe et ne paraît pas se ressentir de la présence du sel. Comme les cellules de levure sécrètent normalement des substances acides, il est certain que de petites quantité d'acide nitreux sont mises en liberté et doivent à la longue nuire au microbe. J'ai en effet observé que dans des solutions sucrées, avec $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{200}$, $\frac{1}{250}$ de nitrite, le développement de la levure est maladif. Elle prend l'aspect d'amas très rameux ; dans les cellules, il y a des grandes vacuoles et des corpuscules graisseux abondants. Des doses aussi élevées semblent nuire directement aux cellules vivantes, exciter la production d'acides par le protoplasme, et provoquer ainsi une accumulation d'acide nitreux dans le liquide de culture. Il ne peut s'agir ici d'invoquer des phénomènes de pression osmotique, car la levure que j'ai étudiée résiste parfaitement à plus de 4 % de chlorure de sodium.

1. *Botan. Zeitung*, p. 855, 1887.

Dans les mêmes solutions que précédemment, mais avec addition de 1 ou 2 millièmes d'acide tartrique, le nitrite de sodium est toxique aux doses suivantes : $\frac{1}{500}$, $\frac{1}{1000}$, $\frac{1}{2000}$. Une solution à $\frac{1}{20000}$ ralentit le développement, et avec $\frac{1}{10000}$ et $\frac{1}{5000}$, il se produit tardivement des amas cellulaires floconneux au fond du liquide. J'ai déjà dit que ces amas trahissent un malaise physiologique. Des doses de $\frac{1}{50000}$ et de $\frac{1}{100000}$ de nitrite n'entravent nullement la croissance.

A l'état naturel et dans l'industrie, les levures vivent dans des liquides acides, et l'on peut dire que la présence de nitrites, à doses suffisantes dans le milieu ambiant, est toujours nuisible.

Cette étude relative à l'action des nitrites sur la levure peut jeter quelque lumière sur une question d'un intérêt pratique assez important. L'expérience a appris aux brasseurs que la plupart des eaux qui contiennent des nitrates sont dangereuses pour la préparation de la bière, surtout lorsqu'elles proviennent de puits peu profonds. La levure s'affaiblit rapidement dans les moûts préparés avec ces eaux ; la conservation de la bière ainsi préparée est incertaine. Mes essais sur la réduction des nitrates par les levures prouvent que si ce phénomène est possible, il est peu probable qu'il puisse passer dans la cuve en fermentation. Le moût de bière à l'ébullition peut aussi donner lieu à la formation de nitrites, mais en quantité très faible. Il semble dès lors que ce ne soient pas les nitrates qui nuisent à la levure, mais bien les nitrites qui existent presque toujours avec ces sels dans les eaux venant de faibles profondeurs. Ces nitrites seraient décomposés par les acides du moût de bière et mettraient en liberté de l'acide nitreux, nuisible pour la levure.

Telle est mon opinion, mais les propriétés physiologiques des levures sont assez variables pour que nous puissions supposer que certaines races aient le pouvoir de réduire nettement les nitrates, même pendant la fermentation alcoolique.

II

Parmi les résultats fournis par la culture des moisissures dans des solutions nourricières ammoniacales et nitriques, l'un des plus curieux m'a été donné par le *Cladosporium herbarum*.

1. *Comptes rendus*, août 1888.

Comme je l'ai déjà indiqué dans ces *Annales*[1], je me borne à le rappeler. La forme typique préfère les nitrates, tandis que les états réduits (*dematium* et formes-levures) assimilent mieux le sulfate d'ammoniaque. Ceux-ci, dans la solution nitrique, produisent presque exclusivement des filaments; des cellules analogues à des levures dominent dans la solution ammoniacale. J'ai fait remarquer que ces différences sont bien dues à la nature de l'engrais azoté, car l'addition du sulfate de sodium à 1 0/0 ne modifie en rien les résultats.

La culture des moisissures qui suivent a été faite dans des matras coniques à fond plat, sur une couche de liquide nutritif peu épaisse. Elle n'a été interrompue qu'après la production complète des appareils conidifères dans les deux essais à comparer pour chaque espèce.

Voici les résultats pour 20 centimètres cubes de solution minérale avec 2,5 0/0 de sucre interverti :

Penicillium glaucum. — Au début de ses travaux sur les microbes, M. Pasteur remarqua que cette moisissure, comme la levure de bière, végète parfaitement dans des solutions minérales auxquelles on ajoute une substance hydrocarbonée et un sel ammoniacal[2]. Le même savant s'assura même que ce sel peut être remplacé par un nitrate.

Dans mes cultures, la croissance a été d'abord plus rapide dans la solution nitrique, mais plus tard cette différence a disparu.

Poids sec de matière vivante produite :

Penicillium glaucum.	
Dans la solution ammoniacale.	0,217 gr.
— nitrique . . .	0,206
Alternaria tenuis.	
— ammoniacale.	0,1075
— nitrique. . . .	0,237
Botrytis cinerea.	
— ammoniacale.	0,2265
— nitrique. . . .	0,155

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, p. 573.
2. *Annales de chimie et de physique*, 3e série, t. LXIV, p. 107.

Mucor racemosus.

Dans la solution	ammoniacale.	0,0435 gr.
—	nitrique. . . .	0,118

Aspergillus glaucus.

—	ammoniacale.	0,1885
—	nitrique. . . .	0,2005

Aspergillus glaucus. — Le mycélium se développe beaucoup plus rapidement dans la solution nitrique; dans la solution ammoniacale, les filaments sont colorés en jaune, tandis qu'ils sont blanchâtres dans l'autre liquide nutritif. Cette coloration jaune, fréquente chez le *Penicillium glaucum*, existait aussi dans les filaments de *Mucor racemosus* développé à l'intérieur du liquide ammoniacal. Elle est sans doute due à une substance résiduaire de la vie des cellules.

Aspergillus niger. — Grâce aux études de M. Raulin, cette espèce convient admirablement aux recherches les plus variées sur la nutrition des champignons. Ce savant [1] avait remarqué, sans y attacher d'importance, que le tartrate d'ammoniaque s'est montré dans ses cultures un peu plus efficace que les nitrates de potassium et d'ammoniaque, pour des quantités équivalentes en azote. Le rapport des poids de plante obtenus comparativement dans les deux cas était de 26 à 20.

Pour éviter l'emploi du nitrate d'ammoniaque, j'avais modifié comme suit la composition du liquide Raulin :

Eau.	1500 cc
Saccharose.	70,00 gr.
Acide tartrique.	4,00
Phosphate de potassium. .	0,60
Carbonate de potassium.	0,60
— de magnésium	0,40
Sulfate de zinc.	0,07
— de fer.	0,07
Silicate de potassium. . .	0,07

Ce mélange était partagé en deux moitiés : dans l'une j'ai introduit 6^{gr},07 de nitrate de soude et dans l'autre 4^{gr},71 de sulfate d'ammoniaque. Par mesure de précaution, je ne fis l'ensemencement qu'avec une très petite quantité de spores.

1. Thèse, p. 142, 1870.

Dans la solution nitrique, la germination et la croissance du mycélium ont été moins rapides que dans la solution ammoniacale, bien que la température fût très voisine de l'optimum (33 à 35°). La production des appareils conidifères a été également plus tardive.

Trois cultures comparatives ont donné ces résultats :

	I	II	III
Dans la solution ammoniacale	9,169 gr.	9,270 gr.	4,311 gr.
— nitrique. . .	6,997	7,209	3,375

Les deux premières séries (I et II) ont été interrompues au septième jour, lorsque le mycélium nourri avec du nitrate avait donné ses spores, il est vrai, peu nombreuses. Les cultures indiquées par le chiffre III furent desséchées à la fin du deuxième jour, avant l'apparition des conidies. Dans les deux cas la différence est à l'avantage de l'aliment ammoniacal.

Oïdium lactis. — Cultivé dans le mélange nutritif employé pour la levure, il n'a pas donné une végétation bien vigoureuse. Toutefois la préférence de cette mucédinée pour les sels ammoniacaux est évidente. J'ai constaté aussi une différence provoquée par la nature de l'engrais azoté. Elle est la contre-partie de ce que présente le *dematium* de *Cladosporium* dans les mêmes conditions : tendance à former des filaments dans la solution ammoniacale et des cellules courtes au contact du nitrate de sodium.

Mycolevure. — Peu d'organismes manifestent une préférence aussi marquée pour les sels ammoniacaux. La mycolevure ne prospère pas dans le mélange employé pour la levure de bière, mais croît à merveille dans le liquide Raulin, auquel j'avais apporté la modification indiquée au sujet de l'*Aspergillus niger*. Après 48 heures à 35°, la mycolevure donnait à la surface de la solution ammoniacale un mycoderme très grimpant le long des parois du matras ; dans la solution nitrique, il n'y avait que quelques lambeaux de mycoderme.

On pourrait supposer qu'un organisme qui se nourrit de préférence d'ammoniaque puisse s'habituer graduellement à l'assimilation de l'acide nitrique. Il n'en est pas ainsi, tout au moins pour la mycolevure. Une culture, dont la semence provenait d'un premier essai dans le mélange avec nitrate, fut faite dans le même milieu. La croissance de microbe fut presque nulle.

Quelles modifications les moisissures que nous venons d'étudier sont-elles capables d'apporter à la substance azotée qui leur sert d'aliment? Aucune n'est capable de déterminer la nitrification du sulfate d'ammoniaque. Je m'en suis assuré avec soin. Par contre, plusieurs réduisent les nitrates en nitrites. Tels sont : le *Cladosporium herbarum* et ses états polymorphes, le *Penicillium glaucum*, l'*Alternaria tenuis* et le *Mucor racemosus*. Je n'ai observé aucun phénomène de réduction avec les *Aspergillus niger* et *glaucus*, ainsi qu'avec le *Botrytis cinerea*.

Comme conclusion des expériences précédentes, il faut admettre que certaines moisissures préfèrent les nitrates comme source d'azote alimentaire, tandis que d'autres assimilent plus facilement les sels ammoniacaux. Il en est aussi qui utilisent d'une manière sensiblement égale ces matières salines.

Dans le genre *Aspergillus*, l'acide nitrique convient mieux à l'*Aspergillus glaucus* et l'ammoniaque à l'*Aspergillus niger*. Il n'y a là rien qui doive nous étonner outre mesure : la sélection naturelle nous explique sans peine ces préférences spécifiques.

III

Des essais identiques à ceux que je viens de rapporter ont été établis pour quelques plantes de grande culture pendant l'été de l'année 1888. Pour les uns, j'employais du sable très pur auquel je mélangeais la plus grande partie des sels alimentaires avant l'ensemencement ; le reste fut distribué plus tard avec les eaux d'arrosement.

Des cultures plus nombreuses furent faites simultanément dans des solutions aqueuses contenant des quantités équivalentes d'azote, sous forme de nitrate de sodium ou de sulfate d'ammoniaque. Voici quel était le mélange employé :

Eau..	1000,	cc
Phosphate tricalcique. . .	0,50	gr.
Sulfate de potassium. . .	0,50	
— de magnésium. .	0,50	
— de calcium. . . .	0,50	
— de fer.	0,01	
Nitrate de sodium.	1,00	
ou Sulfate d'ammoniaque . .	0,77	

Je m'assurais de temps à autre que les liquides de culture

n'étaient pas envahis par les bactéries, qui auraient pu les altérer et nitrifier le sulfate d'ammoniaque. Lorsque cet accident arrive, et il est plus fréquent dans les solutions ammoniacales, les plantes ne tardent pas à s'en ressentir; leurs racines, privées d'air, entrent bientôt en décomposition. Souvent aussi il y a production de nitrates.

Bien que les nitrates puissent facilement être mis en évidence dans l'intérieur des racines au moyen de la diphénylamine, je n'en ai point observé de traces ni dans le maïs ni dans l'avoine. Ces deux espèces sont donc incapables d'opérer la nitrification; les observations analogues de M. Molisch et de M. B. Frank nous permettent de supposer que cette propriété n'existe pas chez les plantes vasculaires, pas plus que parmi les moisissures.

Les pois cultivés dans les deux mélanges ne présentaient pas de différence; leur croissance fut bien supérieure à celle des pois de la même variété cultivés dans le mélange minéral dépourvu d'azote combiné. J'ai fait la même remarque pour le haricot nain, mais cette espèce a mieux assimilé le nitrate que le sulfate d'ammoniaque.

L'avoine et le maïs furent aussi prospères dans les deux mélanges salins. La seule différence qui m'ait frappé est la ramification fort inégale des racines dans les deux milieux. Elles sont courtes, très divisées dans la solution ammoniacale; au contraire, dans la solution nitrique, les racines sont beaucoup plus longues et pourvues de moins de ramifications. On pouvait très facilement distinguer les plantes de chaque catégorie par l'examen des racines [1].

Il semble que nous soyons en présence d'un de ces phénomènes d'adaptation, tels que l'allongement démesuré des racines dans l'eau distillée et dans les terres peu fertiles. C'est un fait bien connu que les nitrates sont facilement entraînés par les eaux dans les couches profondes du sol; les sels ammoniacaux sont, par contre, fixés par la terre et sont plus abondants dans les couches voisines de la surface. La plante serait donc sensible

1. Hampe (*Landw. Versuchstationen*, IX, p. 157, 1867) avait réussi à cultiver le maïs dans une solution ammoniacale. Au contraire, Birner et Lucanus (*Landw. Versuchstat.*, VIII, p. 148, 1866) n'avaient pas vu l'avoine prospérer dans les mêmes conditions.

à la distribution de l'aliment azoté dans le milieu extérieur.

Quant aux cultures dans le sable, elles ont donné des résultats assez différents de ceux que je viens d'exposer. En premier lieu, la germination s'est faite moins bien dans les pots additionnés de sulfate d'ammoniaque, ce que j'attribue à la décomposition de ce sel sous l'action de la chaux mélangée au sable avant l'ensemencement.

Beaucoup de graines, surtout les plus riches en réserves amylacées, furent complètement détruites par la pourriture.

Plus tard, la croissance a été plus belle dans les pots avec nitrates; les tiges étaient plus robustes, les plantes (froment et avoine) ont mieux tallé. Néanmoins, la comparaison des pieds cultivés dans le sable avec sulfate d'ammoniaque avec des pieds cultivés sans engrais azoté, prouvait suffisamment l'assimilation de l'ammoniaque. Des essais avec la diphénylamine et la brucine, faits de temps en temps, m'assuraient que le sable de culture n'avait pas été le siège de phénomènes de nitrification.

La maturation a été plus tardive avec le sulfate d'ammoniaque : la différence était de deux semaines à l'avantage des plantes nourries avec du nitrate de sodium.

Des cultures de *Lolium perenne* dans le sable m'ont montré que cette graminée peut aussi assimiler directement les sels ammoniacaux; cependant elle croît avec plus de vigueur lorsqu'on lui donne un nitrate.

En résumé, ces essais de culture prouvent que les plantes supérieures peuvent, à la rigueur, assimiler les sels ammoniacaux. Mais dans la pratique agricole, les nitrates ont une influence plus régulière et plus manisfeste, parce que les phénomènes de la nutrition azotée des végétaux terrestres se compliquent d'actions multiples qui se passent dans le sol.

Les faits précédents peuvent-ils nous conduire à quelque conception générale sur l'assimilation de l'azote chez les végétaux?

On ne peut mettre en doute que les combinaisons ammoniacales constituent des aliments assimilables pour les plantes les plus diverses, sinon pour tous les végétaux. C'est un fait absolument certain pour les bactéries [1], les levures, les moisissures et

1. Bien souvent j'ai constaté que pour les bactéries vulgaires, les sels ammoniacaux sont bien plus utiles que les nitrates comme source d'azote.

les plantes vasculaires, dont un grand nombre, d'ailleurs, comme les espèces des terrains marécageux et acides, ne trouvent guère de nitrates au voisinage de leurs racines.

Les nitrates ne conviennent guère aux bactéries ni aux levures ; ils sont moins favorables que les sels ammoniacaux à certaines moisissures. Quelques-uns de ces champignons, le mycélium de l'Agaric comestibe, les plantes vasculaires qui croissent dans les terres cultivées, dans les décombres, témoignent une préférence remarquable pour les nitrates. Ces terres sont l'objet d'une nitrification active, et il est bien probable qu'il n'y a là que des phénomènes d'adaptation entre les propriétés physiologiques de l'organisme et ses conditions de vie.

Au point de vue de l'économie de la nature, la production des nitrates nous apparaît comme un phénomène superflu, nuisible même, puisque les plantes qui se nourrissent de nitrates doivent réduire ces sels afin d'en préparer des combinaisons ammoniacales propres à l'assimilation. Si la nitrification existe et joue un rôle si considérable dans la chimie du sol, elle n'est pas, comme on le croit souvent, un moyen de préparer la nutrition des plantes vasculaires. C'est un phénomène fatal, qui est en grande partie l'œuvre des infiniment petits. Et les plantes commensales des microbes du sol auront dû s'habituer à se nourrir de nitrates, sans perdre leur capacité d'assimilation pour l'ammoniaque.

SUR LA CONSERVATION DES LEVURES

Par M. E. DUCLAUX.

Dans un travail *Sur la durée de la vie chez les germes des microbes*[1], j'avais constaté que des levures pouvaient supporter jusqu'à neuf ans de séjour au contact de l'air dans un liquide qu'elles avaient fait fermenter, à la condition que ce liquide ne fût pas trop alcoolique. J'avais utilisé pour cette étude, les ballons qui avaient servi en 1873 et 1874 aux expériences à M. Pasteur sur la bière. Je comptais renouveler ces essais après une nouvelle période de dix ans sur les mêmes ballons, mais j'ai craint de les voir se perdre pendant le déménagement du laboratoire à l'Institut Pasteur, et j'ai cru devoir les étudier à nouveau. Aussi bien les plus vieux avaient-ils, au commencement de 1889, 15 ans et même l'un deux 17 ans de date : c'est une durée presque double de celle qui ressort de mon premier travail.

Je rappelle que ces ballons étaient à deux tubulures, l'une droite et fermée par un bouchon de verre, l'autre effilée, contournée en col de cygne, et ouverte. C'est par celle-ci que se faisait l'aération lente du liquide, et que se produisait une évaporation, lente aussi, qui en quinze ans n'avait fait baisser que de quelques millimètres le niveau primitif, dans les ballons où ce niveau était marqué par un collier de levure adhérente au verre.

Dans mes premiers essais, je n'avais opéré que sur des ballons contenant de la bière. Cette fois j'ai aussi utilisé des ballons dans lesquels M. Pasteur avait remplacé, après fermentation, la bière par de l'eau sucrée à 10 % et acidulée avec 1 à 2 millièmes d'acide tartrique. C'était une des méthodes qui lui

1. *Annales de ch. et phys.* 6e S., t. V, 1885.

avaient servi [1] à purifier ses dépôts de levure des germes étrangers. L'eau sucrée et acidulée est un milieu plus épuisant pour ceux-ci que pour les *saccharomyces*; elle les vieillit ou les tue plus vite, et permet par conséquent aux levures de prendre le pas ou même de se développer seules, lors d'un nouvel ensemencement. Mais les levures s'épuisent aussi dans ce liquide, leur protoplasme y prend plus vite l'aspect granuleux; elles résistent plus ou moins bien à ces influences affaiblissantes, de sorte que l'emploi de ce milieu permet aussi de séparer les levures les unes des autres. Il y avait donc intérêt à savoir si les plus résistantes y mouraient plus vite que dans la bière des autres ballons.

La prise d'essai se faisait en allant chercher au fond du ballon, par sa tubulure droite, avec les précautions requises, et au moyen d'un tube effilé de verre flambé, un peu du dépôt qu'on ensemençait immédiatement dans de l'eau de navets sucrée ou du moût de bière non houblonné. J'ai déjà dit dans mon premier travail qu'il fallait se servir de liquides neutres ou très faiblement acides, et ne pas dépasser 25° pour la température du rajeunissement.

Le tableau de la page suivante donne les résultats des expériences et de l'analyse des bières quand cette analyse a été faite. Tous les nombres de l'analyse sont rapportés au litre : l'alcool est compté en centimètres cubes, les autres éléments en grammes. On a marqué de la lettre B. les levures conservées dans la bière qu'elles avaient produite; de la lettre L, celles qui étaient restées au contact du liquide acidulé et épuisant auquel elles avaient été mélangées, et dont elles avaient poussé plus ou moins loin la fermentation.

En prenant les choses en bloc, on voit d'abord qu'il y a 6 cas de mort sur 26 essais : c'est une proportion de 23 %. J'avais trouvé 3 cas de mort sur 15 essais dans mes premières expériences. La proportion est donc à peu près la même.

Encore tous ces cas de mort n'ont-ils pas la même signification. Celui du ballon n° 10 par exemple était dû à l'invasion d'un pénicillium qui avait altéré le liquide du ballon et la levure sous-jacente. Il ne faudrait pas le compter dans la statistique, ce qui ramène la proportion des morts à 5 sur 25, c'est-à-dire au même chiffre exactement, 20 %, que dans mes premiers essais.

1. Voir *Etudes sur la bière*, p. 225.

Ici encore, pour les ballons nos 11, 17, 22, la mort est survenue sur des levures conservées dans des liquides très alcooliques. Il n'en est pas de même pour les ballons n° 18 et 19, où le titre alcoolique était faible. Mais l'acidité totale par litre était considérable, et comme j'ai fait voir que l'acidité est défavorable à la vie des levures, on a le droit d'attribuer à cette circonstance les cas de mort observés.

N° du ballon.	Age.	État.	Liquide.	Alcool.	Maltose.	Extrait.	A. acit.	A. val.	Ac. total.
1	17 ans.	Vivante	B	31,1	17,0	48,0	0,064	0,114	»
2	15 a. 6 m.	Id.	B	2,2	11,0	34,0	0,133	0,470	»
3	Id.	Id.	B	3,0	»	58,0	0,163	0,427	»
4	Id.	Id.	B	0,9	»	»	»	»	»
5	Id.	Id.	B	»	»	»	»	»	»
6	Id.	Id.	B	»	»	»	»	»	»
7	Id.	Id.	L	»	»	»	»	»	»
8	Id.	Id.	B	4,0	11,8	33,8	»	»	»
9	Id.	Id.	B	»	»	»	»	»	»
10	Id.	Morte	B	»	»	»	»	»	»
11	15 a. 3 m.	Id.	L	56,0	0,0	10,3	0,450	0	2,40
12	Id.	Vivante	L	»	»	»	»	»	»
13	15 a. 9 m.	Id.	B	»	»	»	»	»	»
14	Id.	Id.	B	»	»	»	»	»	»
15	15 ans.	Id.	B	»	»	»	»	»	»
16	15 a. 6 m.	Id.	B	»	»	»	»	»	»
17	Id.	Morte	L	46,0	11,4	»	1,500	0	3,96
18	Id.	Id.	B	25,8	»	77,2	1,810	0	3,36
19	15 ans.	Id.	L	1,3	0,5	16,5	0,070	0	4,50
20	Id.	Vivante	B	21,5	»	20,0	»	»	»
21	11 ans.	id.	B	2,0	»	21,7	»	»	1,15
22	Id.	Morte	B	54,0	20,0	72,0	0,240	0	1,72
23	15 ans.	Vivante	B	»	»	»	»	»	»
24	Id.	Id.	L	52,0	1,0	7,0	0,094	0,028	1,92
25	16 ans.	Id.	B	30,4	6,0	42,0	»	»	»
26	14 a. 6 m.	Id.	B	»	»	»	»	»	»

Les ballons 17 et 19, les plus acides de la série, contenaient tous deux le liquide épuisant dont nous avons parlé plus haut et dans les deux, il reste encore du sucre non transformé. La levure à donc été rapidement atteinte par épuisement, et elle est sans doute morte de très bonne heure, puisqu'elle n'a pas pu faire fermenter tout le saccharose mis à sa disposition. Il ne faut pas confondre en effet ces résidus sucrés et ceux qu'on rencontre dans les

bières. Mon premier travail, comme le second, montre qu'il reste après 10 et 15 ans, dans des bières où la levure est restée vivante, et en dehors de la dextrine, une matière sucrée réduisant la liqueur de Fehling, et qui semble non fermentescible, car on ne réussit pas à la faire disparaître en privant par l'ébullition la bière de son alcool, et en y réensemençant de la levure, soit à l'abri, soit même au contact de l'air.

Les levures de fruits acides sont, comme je le montrerai bientôt, en moyenne beaucoup moins résistantes que les levures de bières, mais pour celles-ci on voit qu'elles peuvent supporter facilement 15 à 17 ans de séjour au contact de l'air dans un liquide pauvre en alcool et en acide libre. A l'abri de l'air dans des ampoules closes, de même qu'à sec, elles n'ont guère plus d'un an de durée.

Je pourrais arrêter ici ce travail si je ne m'étais proposé d'en tirer, par une méthode que je crois nouvelle, la solution d'un problème qui a son petit intérêt historique. On a dit et répété qu'avant la découverte des milieux à la gélatine, il était impossible d'avoir des cultures pures, et qu'en particulier M. Pasteur n'avait jamais pu réussir à isoler, par les procédés de culture décrits dans son livre sur la bière. une espèce de levure des espèces voisines.

L'assertion ne laisse pas que de surprendre ceux qui ont collaboré ou assisté à ces études. M. Pasteur avait vu qu'il fallait se tenir en garde contre les mélanges d'espèces, puisqu'il a dit, p. 218 et 219 de ses *Études sur la bière*, que « très souvent, surtout dans les brasseries mal tenues, et spécialement dans celles où l'on fabrique plusieurs bières, les levains sont des mélanges de diverses levures » ; que « l'inconvénient de ces mélanges se fait sentir déjà dans la fabrication, et plus encore dans la bière après la fabrication » par suite du développement de saveurs nouvelles ; et enfin que « l'on doit redouter dans certains cas, les mélanges de levures presque à l'égal des ferments de maladie, quand ceux-ci n'ont pas pris une grande extension. »

Pour éviter ces mélanges, on soumettait en général les levures à une inspection microscopique soigneuse, faite de préférence quelques heures après l'ensemencement, mais l'expérience ayant appris que la morphologie était un guide incertain pour la distinction des espèces de levures, M. Pasteur avait pris

pour habitude de consulter aussi deux autres caractères, l'examen de la bière au point de vue de son goût et de la façon dont elle s'éclaircissait. Quand on se rappelle combien étaient durables, dans ces bières fabriquées au laboratoire, le goût et la limpidité, on a peine à croire que M. Pasteur soit resté exposé pendant toute la durée de ses études au danger qu'il connaissait et qu'il voulait éviter.

Il pouvait se faire, toutefois, que même dans les levures qu'il croyait les plus pures, il y ait eu un mélange en faibles proportions d'une ou de plusieurs levures étrangères, ressemblant assez à la levure normale pour ne guère s'en distinguer au microscope, et s'accommodant des mêmes milieux au point de garder la même proportion numérique vis-à-vis d'elle, car dans la série des ensemencements successifs auxquels on soumettait le mélange, elle aurait fini par écraser la levure normale si elle avait été plus active qu'elle, ou par disparaître si elle l'avait été moins. Quelque rares qu'eussent pu être ces conditions, elles étaient possibles et justifiaient ma curiosité au sujet de la pureté des levures rajeunies et revivifiées dans mes essais.

Seulement il se présentait ici une difficulté. La méthode de culture sur des milieux solides, qu'on a reproché à M. Pasteur de n'avoir pas employée, est très bonne pour séparer les constituants d'un mélange quelconque. Appliquée par exemple à une levure renfermant 1 0/0 de levures étrangères, on peut arriver facilement à isoler la levure principale qui a peuplé 99 0/0 des colonies, si les deux levures ont la même puissance de développement.

Mais, précisément pour cela, elle est très incommode pour déceler l'existence de la levure étrangère. Il faudrait examiner et réensemencer au moins un cent de colonies pour avoir la chance de rencontrer une fois la levure mélangée. Encore avons nous admis qu'elle se développait dans le milieu gélatinisé à l'égal de la levure normale. C'est sur quoi il est toujours prudent de ne pas compter. Ces milieux solides sont tous et diversement défavorables aux diverses levures, qui y sont en particulier plus sensibles à l'action de la chaleur qu'elles ne le seraient dans un moût sucré, de sorte que si on ensemence la gélatine alors qu'elle est encore un peu chaude, on peut sinon tuer, du moins paralyser assez l'une des levures du mélange

pour que l'autre se développe seule, et paraisse ainsi pure alors qu'elle était plus ou moins impure.

On pouvait pourtant, avec du soin et de la patience, et en multipliant beaucoup les essais, surmonter toutes ces difficultés. Mais alors s'en présentait une autre. Supposons que j'aie trouvé toutes mes cultures formées chacune d'une seule espèce. Rien ne prouvait qu'il n'y en ait pas eu à l'origine, dans le ballon auquel j'avais emprunté mes semences, deux ou plusieurs dont une seule aurait été respectée par le temps. L'identification de cette dernière retrouvée dans mes essais, avec celle sur laquelle M. Pasteur avait opéré, était douteuse, parce que les étiquettes des ballons d'origine ou bien étaient incomplètes, ou bien avaient été effacées par le temps, ou bien portaient des noms provisoires sur lesquels je ne savais rien. Les seules indications formelles étaient des dates et des filiations. C'était assez pour asseoir un contrôle d'une déduction venue d'ailleurs, ce n'était pas assez pour étayer une conclusion.

Le problème était donc le suivant. Etant donnés 25 ou 50 matras renfermant tous des cultures de levures diverses, chercher dans ces matras ceux qui contiennent la même levure. Ce travail préliminaire fait, il devient simple de savoir si cette levure est bien celle qu'avait étudiée M. Pasteur. C'est affaire de comparaison des dates et des données fournies par les étiquettes avec les renseignements et les dessins qu'on trouve dans son livre sur la bière. C'est la première partie du problème qui est seule intéressante, et voici comment je l'ai résolue :

Les étiquettes et les numéros des ballons étant préalablement brouillés, de façon à éviter toute cause d'illusion suggestive, j'ai fait une première série d'ensemencements de mes divers matras dans des quantités égales d'un même milieu neutre, favorable à tous. De ces cultures, qu'on peut considérer comme également peuplées, et avec une très petite anse de fil de platine qui enlève la même quantité de semence ou à peu près, on ensemence une solution nutritive, mais légèrement alcaline, renfermant par exemple l'équivalent de 150 ou 200 milligrammes d'ammoniaque par litre. Cette alcalinité fait à la semence des conditions défavorables, dont elle triomphe plus ou moins facilement, et l'expérience montre que le développement s'échelonne sur une période plus ou moins longue, et même que sur quel-

ques lots il ne se fait pas du tout. Il y a évidemment des raisons pour considérer non comme identiques, mais comme pouvant être identiques tous les lots qui ont donné une culture le même jour. Les quantités de semence ont en effet partout été les mêmes, et d'un autre côté, la multiplication marche très vite dès qu'elle est devenue apparente à l'œil, de sorte qu'on a le droit de faire des catégories, et de ranger dans un même lot, dans un même classement, tous les matras qui se sont montrés féconds le même jour. A l'égard de ceux qui ne donnent rien, il suffit de recommencer l'expérience avec un liquide un peu moins alcalin pour les voir se classer comme les autres.

Il est bien entendu qu'on fait de tous ces matras, au moment où on les trouve peuplés, une inspection microscopique, dont les résultats corroborent ou infirment les conclusions qu'on peut tirer de la simultanéité du développement. Il est bien entendu aussi que si on le juge utile, on fait des essais comparatifs sur gélatine nutritive. Mais dans ces milieux, les levures sont dans des conditions plus défectueuses et prennent des formes plus anormales que dans les moûts.

On fait deux ou trois cultures successives de chacune des levures dans le milieu alcalin, en ensemençant à chaque fois avec une petite quantité de semence, de façon à éteindre, dans le cas où il y aurait eu mélange à l'origine, celle des deux levures qui s'accommode le moins bien de l'alcalinité du milieu. Puis on reporte en milieu neutre et on fait une comparaison soigneuse de cette culture venant d'un milieu alcalin avec une autre culture dans un milieu identique, mais dont la semence a été empruntée au matras d'origine, et renferme l'espèce ou les espèces qu'il s'agit de séparer. Cette comparaison avertit le plus souvent s'il y a eu mélange, mais il faut soumettre cette conclusion à une autre épreuve avant d'y ajouter foi.

Il suffit pour cela de recommencer avec un milieu acide ce qu'on vient de faire avec un milieu alcalin. En prenant du moût de bière acidulé avec 1 à 2 0/0 d'acide tartrique, on peut bien plus sûrement qu'avec les liqueurs, trop faiblement acidulées, employées par M. Pasteur, répartir sur une semaine les éclosions des divers matras ensemencés et faire par conséquent un lotissement nouveau. Si ses résultats coïncident avec le premier, c'est-à-dire si les levures qui ont éclos le même jour dans un milieu

alcalin se montrent aussi contemporaines en milieu acide, si de plus l'inspection microscopique qu'on a dû faire dans les deux cas révèle entre elles une identité de forme qui se retrouve la même quand on les ramène en milieu neutre, on a évidemment de très bonnes raisons de les considérer comme identiques. Si au contraire les deux séries de cultures du matras d'origine, l'un en milieu acide, l'autre en milieu alcalin, aboutissent à des formes différentes, qui restent différentes quand on les ramène en milieu neutre, la conclusion s'impose d'elle-même. Il y a mélange. On voit que la méthode est infiniment plus courte et tout aussi sûre que la méthode des cultures sur gélatine.

Dans l'espèce, il ne me restait plus, après avoir réglé pour chacun de mes ballons cette question initiale, qu'à faire un récolement d'étiquettes et à voir si les levures que j'avais isolées correspondaient bien, dans leur filiation, avec les inductions à tirer des comparaisons des dates, et dans leurs propriétés morphologiques, avec les indications du livre sur la bière de M. Pasteur.

Voici brièvement résumés les résultats de cette étude.

Les neuf premiers numéros du tableau se rapportent aux neuf ballons dans lesquels j'ai retrouvé vivant le *Saccharomyces pastorianus* des *Etudes sur la bière*. Il y était à l'état absolument pur. J'ai essayé de voir s'il appartenait exclusivement à l'une des variétés I, II ou III que M. Hansen a établies dans cette espèce, ou s'il était un mélange des trois. Mais il m'a paru que cette classification de M. Hansen était artificielle. Les plus grosses différences sont que l'une des variétés est une levure basse, l'autre une levure haute, la troisième intermédiaire entre les deux. Mais ce caractère est variable selon la nature des milieux, et par exemple le même saccharomyces ne se comporte pas de la même façon en milieu acide et en milieu alcalin. J'ai donc cru devoir, pour le moment du moins et jusqu'à plus ample informé, me borner à caractériser l'espèce.

Il est remarquable que pour les trois échantillons de bière produite par cette espèce et soumise à l'analyse, on ait trouvé, comme acides volatils, un mélange d'acide acétique et d'acide valérianique, tandis qu'avec d'autres levures on ne rencontre que de l'acide acétique et même (V. mon premier Mémoire) de l'acide valérianique pur. Il faut évidemment rapprocher ces dif-

férences des différences qu'amènent ces levures dans le bouquet et la saveur des moûts qu'elles font fermenter.

Les nos 12, 13, 14 et 15 contiennent tous quatre une seule et même levure, celle que M. Pasteur a décrite sous le nom de *nouvelle levure haute*, à la page 194 de ses *Études sur la bière*. La pureté de cette levure n'a rien qui puisse surprendre : elle provenait d'un ensemencement spontané, et avait été l'objet d'une série de purifications méthodiques. D'après les étiquettes, le n° 11 contenait la même levure, mais là elle était morte.

De même, le n° 16 contient à l'état pur la *levure caséeuse* décrite page 196 du même livre. Les nos 17 et 18 contenaient la même levure morte. D'après les analyses du tableau, ces deux levures donnent toutes deux de l'acide acétique. Il n'y a pas à ajouter d'importance aux différences dans les chiffres, qui sont en rapport avec les différences dans les poids de levures, très inégaux, qu'on trouvait dans les divers ballons.

Le n° 20 était une levure donnée comme provenant de la brasserie K... Elle était formée de deux levures : l'une grosse et ronde, l'autre petite et ovale.

Le n° 21 était une levure provenant de la brasserie V... Elle m'a paru pure.

Les nos 23, 24 et 25 ne portaient aucune mention d'origine. Les deux premiers m'ont paru contenir chacun une espèce pure, différente des précédentes. Le dernier n'a pas été étudié.

Le n° 26 était une levure provenant de la brasserie T... C'était une levure basse, mélangée d'un peu d'une levure haute et plus grosse.

On voit en résumé que sur les 20 ballons étudiés au point de vue de la pureté de l'espèce, 2 seulement contenaient deux levures différentes, et ils provenaient tous deux d'une levure de brasserie, restée en dehors des expériences de M. Pasteur, et non soumise à des purifications méthodiques. En somme, la technique basée sur les propriétés physiologiques des levures, sur leur inégale puissance ou leur inégale rapidité de développement dans divers milieux, peut conduire à les distinguer et à les séparer les unes des autres, aussi bien que la technique des cultures sur gélatine, et même se montrer supérieure dans certains problèmes particuliers, tels que celui de ce travail, où elle a été plus commode et plus rapide.

RECHERCHES SUR LA VACCINATION ANTIRABIQUE

Par MM. **BABÈS** et **LEPP**, à Bucarest.

La vaccination antirabique de l'homme donne dans les mains de M. Pasteur et de ses élèves des résultats sûrs. Depuis le commencement de la vaccination antirabique à Bucarest, du 6 mai 1888 au 6 mai 1889, sur 146 cas de morsures par des chiens enragés dont la rage a été confirmée cent deux fois dans notre Institut, nous n'avons pas eu un seul insuccès.

Cependant les plaies graves à la tête produites par des loups enragés résistent parfois au traitement.

Contre les morsures du loup, on emploie partout un traitement plus intensif en injectant des quantités plus considérables de vaccin, en répétant plusieurs fois la série des inoculations, et en allant jusqu'aux moelles fortes du second jour et même du premier jour. Dans certaines stations, on donne pendant quelques jours 12 à 24 centimètres cubes d'une émulsion assez concentrée de moelle rabique, et le traitement dure au moins un mois.

Nous nous sommes demandé à quelle dose maximum de moelle rabique on peut aller sans compromettre la vie, et s'il n'existerait pas de vaccin efficace en même temps qu'inoffensif. Des recherches dans cette direction pouvaient encore nous apprendre si la vaccination agit par le virus même ou par une substance chimique, et si les cellules de l'organisme rendu réfractaire peuvent transmettre leur immunité. Dans une communication faite en 1887 dans les *Archives de Virchow*, l'un de nous avait constaté que ni la substance virulente filtrée par le filtre Pasteur, ni la substance virulente exposée longtemps à la température de 75° centigrades, ni l'extrait alcoolique évaporé à une haute température, ne

donnent la rage et ne sont capables de vacciner. Des résultats semblables ont été obtenus aussi par d'autres expérimentateurs. Ces recherches ont été poursuivies et élargies de la façon suivante :

I

Nous avons cherché d'abord à déterminer la puissance vaccinale des moelles desséchées suivant leur âge.

a — Deux chiens et deux lapins ont été vaccinés pendant sept jours avec la moelle de 14 jours. Les chiens recevaient chaque jour 30 grammes, les lapins 10 grammes d'émulsion de 2mm de moelle dans un gramme de bouillon. Les lapins et les chiens, en même temps qu'un chien de contrôle, ont été inoculés avec le virus des rues, 6 à 8 jours après la fin du traitement, et tous ont succombé à la rage 15 et 18 jours après l'inoculation.

b — La même expérience répétée avec la moelle de 13 et de 10 jours a donné le même résultat.

c — Nous avons constaté d'abord, à plusieurs reprises, que notre moelle de 6 jours ne donne pas la rage, mais qu'elle détermine souvent, après inoculation intracrânienne chez le lapin, la fièvre prémonitoire.

Ce fait établi, nous avons vacciné deux chiens en leur injectant 8 grammes d'émulsion de moelle de 6 jours pendant 8 jours consécutifs. Cinq jours après, ces chiens, en même temps qu'un chien de contrôle, ont été inoculés par trépanation avec le virus des rues. L'un des chiens succomba 8 jours après, à une maladie intercurrente ; le chien de contrôle mourut enragé au 18e jour, tandis que le second chien vacciné est encore en pleine santé, six mois après l'expérience. Un lapin, inoculé aussi avec les mêmes moelles de 6 jours, est resté sain.

d — Deux chiens ont été vaccinés : le premier jour avec 4 grammes de moelle de 10 jours, et 4 grammes de moelle de 8 jours, le jour suivant avec les moelles de 8 et 7 jours, le troisième jour avec celles de 6 et 7 jours, et les 7 jours suivants chaque jour deux fois avec la moelle de 6 jours. Après 15 jours, les deux chiens, de même que deux lapins de contrôle, ont été inoculés avec le virus des rues ; les lapins succombèrent après 12 et 13 jours, l'un des chiens 19 jours après la trépanation, avec les symptômes de la rage, tandis que l'autre chien vacciné a résisté.

Comme la vaccination, poussée même jusqu'aux moelles tout à fait virulentes, ne préserve pas toujours les chiens contre l'inoculation du virus des rues introduit par trépanation, le résultat obtenu en vaccinant avec des moelles qui ne sont plus mortelles par trépanation, nous semble assez bon.

II

Nous nous sommes demandé ensuite si la vaccination par des substances chimiques peut produire l'immunité. Les expériences que M. Pasteur a fait faire par M. Vialla rendaient ce résultat très probable. Nous avions constaté déjà en 1887 (*Journal des Connaissances médicales*, mai) que la température de 63-70° C. tue le virus rabique, et que par l'inoculation de 10 grammes de moelle chauffée à 70°, les lapins n'étaient pas rendus réfractaires contre la trépanation avec le virus des rues. Nous avons continué ces expériences de la façon suivante :

a — Une émulsion du cerveau entier d'un lapin mort de la rage fixe a été chauffé le jour même au bain-marie jusqu'à 80°, et inoculée à deux reprises à un chien. La même épreuve a été répétée pendant 7 jours. Sept jours après, le chien fut inoculé par trépanation avec le virus des rues. Il succomba 15 jours après à la rage.

b — Deux chiens ont été vaccinés de la même façon sans être infectés ensuite. Ils moururent, sans symptômes de rage, 17 et 12 jours après la fin du traitement, avec un affaiblisement général et sans présenter de lésions appréciables.

c — Une expérience analogue a été faite sur deux chiens qui reçurent, pendant 12 jours, chaque jour l'émulsion faite avec un cerveau de lapin de passage. Tous les deux succombaient 4 et 6 jours après la fin du traitement, sans symptômes de rage et sans lésions anatomiques.

d — En constatant que la vaccination avec des doses considérables de substance rabique produit ordinairement la mort de l'animal par affaiblissement général, et que ce procédé ne préserve pas contre la rage, nous avons essayé, en commun avec M. Puscariu, de préparer d'abord l'organisme du chien par des doses plus faibles du même vaccin chauffé de la manière suivante :

Trois chiens furent vaccinés pendant dix jours. Le premier jour chacun d'eux reçut 5 grammes, le jour suivant 10 grammes, le

3e jour 15 grammes, et les jours suivants 20, 25, 30, 35, 40 et 45 grammes, cette dernière dose représentant la moitié d'un cerveau de lapin mort de la rage fixe.

Cinq jours après la fin du traitement, deux de ces chiens, en même temps qu'un chien de contrôle, ont été inoculés par trépanation avec le virus des rues. Un des chiens vaccinés et trépanés succomba à la rage 14 jours après la trépanation, de même que le chien de contrôle, tandis que l'autre chien vacciné et trépané et le chien vacciné et non trépané vivent encore trois mois après l'infection. La moelle chauffée à 80°, et qui n'est plus virulente, peut donc donner l'immunité.

III

Après avoir constaté qu'une masse considérable de la substance cérébrale du lapin rabique, chauffée à 80°, peut aussi produire la mort de l'animal, nous avons entrepris d'autres expériences pour préciser le maximum de la dose inoffensive pour le chien.

a — Deux chiens vaccinés pendant huit jours, chaque jour avec 50 grammes de liquide contenant 5mm de moelle, et ayant reçu ainsi plusieurs séries de moelles de 12 à 1 jour, sont morts, de 14 jours à 1 mois après la vaccination, sans symptômes de rage, mais avec amaigrissement et faiblesse. Le bulbe des chiens, inoculé aux lapins, ne donnait pas la rage.

b — Un chien reçut 3 jours de suite 100 gr. d'une émulsion faite avec 1 cent. de moelle, et chauffée pendant 12 heures à 60° C. Il mourait 14 jours après avec les mêmes symptômes que plus haut.

c — Un extrait acide et alcoolique de cerveaux rabiques, filtré, évaporé dans le vide et donnant les réactions des ptomaïnes, produisit la mort de deux lapins et d'une souris, en quelques jours, sans paralysie et sans symptômes de rage.

Nous avons pu constater que des souris, inoculées avec de petites quantités d'extrait rabique, contenant 0,1 gram. de substance fixe, meurent souvent en 12-30 heures. Les lapins inoculés avec de plus grandes quantités (plusieurs grammes) meurent en quelques jours, les cobayes inoculés avec la même quantité succombent le jour suivant. En inoculant dans le péritoine du cobaye, à deux reprises, un liquide contenant 0,1 gr. de substances fixes, l'animal devient triste et meurt le même jour sans lésions appréciables.

Avec l'extrait du cerveau d'animaux bien portants, inoculé dans les mêmes conditions, nous n'avons observé aucun accident.

Il faut ajouter que deux souris qui ont été inoculées avec de petites quantités (0,5 gr.) de l'extrait rabique ont survécu et elles ont résisté aussi, quelques jours après, aux inoculations avec des doses plus grandes, qui ont tué une souris de contrôle.

d — Tandis que l'inoculation de ces extraits ou de grandes masses de substance vaccinatoire est toxique, l'inoculation de 24 grammes par jour de vaccin commun (moelles de 12 à 1 jour) pendant 14 jours a été supportée par un chien. Dans un autre cas, le chien inoculé de la même façon mourut vingt jours après la fin des inoculations, par affaiblissement, sans lésion appréciable, et sans que sa moelle fût virulente.

e — Deux chiens ont été vaccinés pendant 30 jours, chaque jour avec 20 grammes d'émulsion d'un mm. de moelle pour 1 gramme de bouillon; ils reçurent le premier jour les moelles de 12, 11, 10 et 9 jours, le second jour les moelles de 8, 7, 6, 5 jours; le troisième jour les moelles de 4, 3, 2 et 1 jour. Cette série a été répétée 10 fois. Les deux chiens sont encore bien portants 5 mois après la vaccination.

Ces recherches montrent donc qu'on peut aller chez le chien jusqu'à une quantité assez grande sans que l'action toxique de la substance rabique se manifeste. Pour être sûr de n'avoir pas d'accident, il est préférable de commencer l'inoculation avec des doses faibles.

IV

Les expériences précédentes montrent aussi qu'on peut vacciner avec des substances qui ne donnent pas la rage et qui ne sont pas toxiques à petite dose. Seulement, pour produire l'immunité avec ces substances, il faut employer de grandes doses dont l'usage n'est pas tout à fait inoffensif.

Nous nous sommes demandé si les liquides et les cellules des animaux rendus réfractaires ne sont pas devenus des vaccins et ne peuvent pas préserver aussi d'autres organismes.

Nous avons vu, pendant le cours de nos recherches, que ce problème était étudié pour diverses maladies expérimentales, et cela nous a encouragés à suivre cette idée. Nous avons procédé de la façon suivante :

a — Deux chiens vaccinés et revaccinés ont fourni le matériel vaccinal. On prit pendant 6 jours, chaque jour deux seringues de 5 grammes de sang de leur veine jugulaire, et on l'injecta à deux autres chiens.

Le septième jour, ces deux derniers chiens, en même temps qu'un autre qui servait de contrôle, ont été inoculés par trépanations avec le virus des rues. L'animal de contrôle, de même que l'un des chiens vaccinés, moururent au seizième et au vingtième jour après l'opération, tandis que le second chien vacciné vit encore six mois et demi après la trépanation.

b — Deux lapins reçurent pendant sept jours, chaque jour 4 grammes de sang des chiens vaccinés. Ces lapins, en même temps que deux lapins de contrôle, ont été inoculés sous la peau avec le virus des rues. Les deux animaux de contrôle moururent 18 et 21 jours après l'inoculation sous-cutanée, tandis que les deux lapins vaccinés mouraient cinquante et soixante-deux jours après l'inoculation; ils avaient succombé à des maladies intercurrentes; leur bulbe inoculé n'a pas donné la rage.

c — En répétant les mêmes expériences mais en inoculant les animaux vaccinés avec un virus en train de se fixer, les animaux vaccinés n'ont pas résisté.

d — Quatre chiens à qui l'on avait rasé la tête furent mis dans la cage d'un chien enragé qui les mordit à la tête. Deux de ces chiens servaient de contrôle, et deux d'entre eux avaient été vaccinés avec du sang pendant sept jours. Les deux chiens de contrôle prirent la rage 16 et 28 jours après la morsure; l'un des chiens vaccinés mourut un mois après la morsure, sans symptômes de rage, et sans que son bulbe inoculé au lapin ait produit la rage; l'autre chien vit encore après plus de 2 mois.

Conclusions

1° Ces données confirment d'abord l'efficacité et l'inoffensivité du traitement antirabique d'après le système de M. Pasteur, et surtout après les dernières modifications apportées à ce traitement; nous pouvons ajouter que nous nous sommes en effet convaincu plusieurs fois que les chiens mordus à la tête par des chiens enragés ont été sauvés par l'application de notre traitement, tandis que les autres méthodes, par exemple la vaccination avec la

substance atténuée par la chaleur ou avec une dilution de la substance rabique fixe, donnent des résultats peu constants. Cette dernière méthode, recommandée de nouveau dans ces derniers temps, nous a donné une fois la rage au lieu de l'immunité.

2° Nos expériences tendent encore à montrer qu'on peut vacciner avec des substances qui sont à la limite de leur action pathogène, qui ne produisent par inoculation méningée qu'une fièvre passagère mais jamais la mort des animaux. Il est même possible qu'on puisse vacciner avec des substances qui ne renferment plus de virus vivant, seulement il ne faut pas oublier que dans les expériences de M. Pasteur, de même que dans les nôtres, on ne peut pas exclure une certaine action vitale du virus rabique. Aussi ces substances, dont l'action vitale n'est pas prouvée, ont-elles une action vaccinante très peu stable, et il nous semble qu'il en faut toujours employer de grandes doses pour produire l'immunité contre l'inoculation intracrânienne.

3° D'autres substances, d'où le virus est tout à fait exclu, ainsi la substance rabique filtrée par le filtre Pasteur ou bien chauffée à 100°, ou chauffée longtemps à 80°, ou enfin l'extrait alcoolique de cette substance, ne produisent ni la rage ni l'immunité.

4° La substance rabique, même après stérilisation, est toxique en grande quantité, et il faut se garder d'en employer trop pour vacciner. Cependant on peut accoutumer l'organisme à de grandes doses de vaccin en commençant par des doses plus petites; mais cette propriété n'a rien à faire avec la vaccination antirabique.

5° Il faut admettre la possibilité de vacciner avec les liquides et les cellules des animaux rendus réfractaires.

En revenant aux questions que nous nous sommes posées au commencement de ce travail, nous sommes disposés à admettre l'efficacité non seulement de la vaccination par un virus vivant, même avec un virus atténué qui ne produit plus la rage, mais aussi la réalité de la vaccination par les cellules vivantes provenant des animaux rendus réfractaires ; il nous semble au contraire peu probable qu'on puisse arriver à employer utilement des substances purement chimiques provenant des animaux enragés.

REVUES ET ANALYSES

Behring. — Contribution à l'étiologie du charbon. *Zeitschr. f. Hygiene*, t. VI, p. 120 et 468.

Le titre donné par M. Behring à ses mémoires pourrait induire en erreur sur leur contenu, car il s'agit surtout d'étudier la valeur antiseptique de diverses substances vis-à-vis de la bactéridie charbonneuse. Mais dans cette recherche, M. Behring a rencontré des faits intéressants et qui méritent qu'on s'y arrête. Beaucoup confirment ce que j'avais dit en 1885 dans ma Microbiologie, et ce que ces *Annales* ont toujours maintenu au sujet du degré de contingence de toutes les réactions dites antiseptiques.

Ainsi, la bactéridie charbonneuse s'accommodant également mal d'un excès d'acidité ou d'alcalinité dans son milieu nutritif, un acide favorisera le développement dans un bouillon alcalin tant qu'il ne le rendra pas acide, et il en sera de même pour un alcali dans un milieu un peu trop acidulé. La même substance sera donc favorable et défavorable suivant les doses.

Dans ces cas, la nature de l'acide ou de la base sera naturellement un peu indifférente. Mais il y en a où les caractères chimiques du sel ajouté, je ne dis pas de sa base, auront de l'importance. Par exemple, M. Behring a fait voir que la bactéridie charbonneuse, semblable en cela à une foule de ferments, donnait en se multipliant un acide qui entravait sa croissance. Si on ajoute du carbonate de chaux au liquide, cet acide est saturé à mesure de la production et devient inoffensif. Mais on ne pourrait pas remplacer le carbonate de chaux par du carbonate de potasse, sel soluble et alcalin, qui rendrait le milieu défavorable au bacille.

On trouve un nouvel exemple de ces faits, paradoxaux seulement en apparence, dans l'étude de l'action antiseptique des sels de mercure et d'or. Le sublimé perd de sa puissance antiseptique dans les milieux alcalins, où le mercure est précipité à l'état d'oxyde. Il la conserve en présence du sel marin, de la peptone ou d'un acide qui

l'empêchent de se précipiter; il la conserve encore dans des milieux où il n'y a pas d'albumine. C'est l'inverse pour les sels d'argent, que le sel marin précipite à l'état de chlorure. L'ammoniaque, les bases organiques et l'albumine redissolvent, il est vrai, ce chlorure et maintiennent l'argent à l'état d'oxyde qui est moins actif que le nitrate d'argent, de sorte qu'en leur présence le nitrate conserve encore un peu d'activité. Il la perd en présence des acides.

Les sels de protoxyde de mercure ressemblent, sous ce point de vue, aux sels d'argent, de sorte qu'on a le spectacle très singulier d'un même métal, le mercure, se comportant de façons très diverses dans un même milieu, suivant qu'il est à l'état de sel de protoxyde ou de bioxyde.

A ces faits curieux, mais facilement explicables, M. Behring en ajoute un plus curieux, mais qu'il laisse plus inexpliqué. L'aurocyanure de potassium empêche, à la dose de un millionnième, le développement du *bacillus anthracis* dans le bouillon, la gélatine et la gélose. Il est beaucoup moins actif quand le bouillon a été légèrement alcalinisé avant la cuisson, ce qui y fait entrer en solution un peu d'albumine. Il l'est encore moins en présence du sérum du sang, dans lequel il n'agit sur la bactéridie qu'à la dose de $^1/_{20\,000}$ ou de $^1/_{30\,000}$.

Rien, dans la réaction du liquide ou dans sa richesse en sels, n'explique ces différences. M. Behring en a recherché les causes dans la matière albuminoïde, et il s'efforce de prouver que c'est non pas l'albumine, mais la globuline du sérum qui affaiblit la puissance de l'aurocyanure de potassium.

On sait qu'on désigne sous le nom de paraglobuline la matière qui se précipite lorsqu'on fait passer un courant d'acide carbonique dans du sérum non neutralisé et étendu d'eau. Cette paraglobuline contient en outre du fibrinogène et du ferment de la fibrine. En la séparant et en la redissolvant dans une trace de soude, on en fait un excellent milieu de développement pour le bacille du charbon qui n'y est arrêté que par $^1/_{15\,000}$ du sel d'or, c'est-à-dire par une dose supérieure à celle qui est nécessaire pour stériliser du sérum étendu au même degré.

Il n'en faut plus maintenant que $^1/_{75\,000}$ à $^1/_{100\,000}$ pour stériliser le sérum débarrassé de paraglobuline.

Il n'est pas douteux, d'après cela, que la substance précipitée par l'acide carbonique ne gêne, pour son compte personnel, l'action antiseptique de l'aurocyanure de potassium. Toute la question est de savoir s'il faut attribuer cet effet à une substance dite paraglobuline, ou, ce qui revient au même, s'il faut ajouter foi à l'existence réelle de ce corps. C'est un point sur lequel je confesse mon scepticisme. Ce n'est pas ici le lieu d'en donner les raisons, et je n'aurais même pas

fait cette réserve si M. Behring ne tirait de son étude une conclusion qui me semble prématurée. Ajoutant une foi absolue aux recherches par lesquelles M. L. Frédéricq a essayé de prouver que dans le sang des animaux d'espèces différentes, et même de ceux d'une même espèce, il n'y avait pas toujours les mêmes quantités d'albumine et de paraglobuline, M. Behring laisse entendre qu'il faut tenir compte de ces différences dans l'application des antiseptiques aux hommes et aux animaux. J'incline à penser, au contraire, que les différences trouvées par M. L. Frédéricq sont contingentes, que le mode opératoire y est pour beaucoup, et que si on n'a, au fond, aucune raison sérieuse de croire que, dans une même espèce vivante, le sang est toujours le même à différents moments et à diverses époques, il y a au contraire des raisons de penser que ces variations sont comprises dans d'étroites limites. Cette manière de raisonner, déjà employée par M. Behring dans ses recherches sur l'immunité des rats blancs contre le charbon, et qui revient à juger ces questions d'immunité par des faits tous pris en dehors de l'organisme, me semble assez périlleuse pour qu'on ne lui donne droit de cité dans la science que lorsqu'elle se sera entourée de raisons sérieuses qui lui font encore défaut.

Le fait découvert par M. Behring peut, en effet, recevoir bien des interprétations. Rien ne prouve, par exemple, qu'il n'y ait pas, dans le sérum du sang, en quantités très minimes, une substance réduisant le cyanure d'or et précipitable par l'acide carbonique. en même temps que la prétendue globuline. Ce serait alors cette substance qui y détruirait, en quantités minimes aussi, le sel d'or, dont l'excédent seul, restant en solution, exercerait ses propriétés antiseptiques.

Les faits qui me restent à exposer sont du même ordre : très intéressants en eux-mêmes, ils sont encore d'une interprétation douteuse.

Dans une série de recherches sur des antiseptiques divers, M. Behring est arrivé à voir qu'il y avait un rapport assez constant entre les doses antiseptiques du sel employé, je veux dire celles qui arrêtent la croissance de la bactéridie charbonneuse dans du sérum, et les doses toxiques, je veux dire celles dont l'inoculation sous-cutanée suffit à tuer un animal d'un poids donné. Je prends un exemple. Avec 100 milligrammes de sublimé, on empêche une culture de bactéridie sur un litre de sérum. Pour tuer un lapin par voie d'injection sous-cutanée, il en faut, d'après les expériences de Riedel, environ 17 milligrammes par kilogramme de lapin. Le rapport de 100 à 17 est à peu près de 6; c'est ce rapport que M. Behring appelle toxicité relative.

Chose assurément assez singulière, ce rapport est à peu près constant quand on s'adresse non aux poisons spéciaux de certains tissus,

comme l'atropine, la morphine, la vératrine, mais aux plus usuels des antiseptiques. Voici pour le prouver, des doses antiseptiques et toxiques de divers sels, exprimés en milligrammes par kilogramme de sérum ou de lapin.

	Doses antisept.	Doses toxiques.	Toxicité relative.
Acide phénique.	1700	270	6
Bichlorure de mercure.	100	17	6
Trichlorure d'iode	330	58	6
Sol. alcal. d'argent.	75	20	4
Chlorhydrate de quinine. . . .	800	170	5
Chlorhyd. d'hydroxylamine. . .	670	55	12
Mercuro-cyanure de potassium.	17	3,3	6
Argento-cyanure de pot. . . .	20	3,3	6
Auro-cyanure de pot	40	6,7	5 à 6

Il est clair que ces chiffres n'ont rien d'absolu, mais quand on songe à l'infinie variété des réactions auxquelles une substance est soumise quand elle est introduite dans l'organisme par voie d'inoculation sous-cutanée, on ne peut que s'étonner de voir une sorte de proportionnalité entre son action sur un être vivant et celle qu'elle produit sur le bacille charbonneux dans un tube de sérum.

Est-on autorisé à aller plus loin, et à conclure, comme M. Behring, qu'il y a peu d'espoir de rencontrer un « antiseptique non toxique »? Bornons-nous à remarquer que cela n'est pas nécessaire, et que pour nous rendre des services, les antiseptiques que nous employons n'ont pas besoin de tuer les microbes contre lesquels on les envoie lutter. Il suffit qu'ils arrivent à les affaiblir, avec le concours des cellules de l'organisme, et rien ne nous dit qu'à des doses plus faibles que les doses mortelles, le rapport que nous avons appelé toxicité relative ne soit pas renversé.

Dx.

G. Bunge. — Remarques sur la théorie de la fonction des glandes. *Archiv. f. Anat. u. Physiol.* 1886, p. 539. — Sur les origines du fer dans l'organisme du nourrisson. *Zeitchr. f. Physiol. Chemie*, t. XIII, p. 399, 1889.

Les exemples ne manquent pas pour montrer que la vie cellulaire est foncièrement la même dans le monde des animaux supérieurs et dans celui des infiniment petits. En voici un nouveau dont l'étude soulève des idées intéressantes. On sait que la composition des cendres d'un microbe est très souvent différente de celle du milieu minéral en solution dans son liquide nutritif, et que par conséquent, elle ne dépend pas, ou ne dépend pas seulement d'une question d'endosmose.

M. Bunge a de même montré, il y a quelques années, que la composition des cendres du lait n'était pas la même que celle du sang dans lequel puisaient les glandes mammaires. En revanche il a fait voir qu'elle était à très peu près la même que celle des cendres du nourrisson, supposé incinéré en bloc. Celui-ci ne semble donc pas choisir, en l'envisageant dans son ensemble ; mais dans le détail, il est clair qu'il sélectionne aussi, et que la composition de ses muscles est différente de celle de ses os.

Ces ressemblances et ces différences sont curieuses. Elles sont consignées dans les nombres suivants :

100 p. de cendres contiennent.	JEUNES NOURRISSONS. Lapin.	Chien.	Chat.	Lait de chienne.	Sang de chienne.	Sérum du même sang.
K^2O	10,8	8,5	10,1	10,7	3,1	2,4
Na^2O	6,0	8,2	8,3	6,1	45,6	52,1
CaO	35,0	35,8	34,1	34,4	0,9	2,1
MgO	2,2	1,6	1,5	1,5	0,4	0,5
Fe^2O^3	0,23	0,34	0,24	0,14	9,4	0,12
Ph^2O^5	41,9	39,8	40,2	37,5	13,2	5,9
Cl	4,9	7,3	7,1	12,4	35,6	47,6

On voit combien les cendres du lait ressemblent plus à celles du nourrisson que celles du sang ou du sérum. Elles sont plus riches que le sang en potasse, plus pauvres en soude, contiennent en beaucoup plus grande abondance les éléments du phosphate de chaux des os, etc.

Le fer seul est dans le lait en quantités sensiblement moins grandes que dans les cendres de l'animal. M. Bunge est revenu sur cette comparaison qui doit être faite avec soin pour être probante, et qui rencontre certaines difficultés. Si on s'adresse à de petits mammifères, on n'a pas assez de lait pour que le dosage du fer soit précis. Si on en prend de gros, leurs nourrissons ont un volume qui en rend l'incinération difficile. M. Bunge s'est adressé à la chienne. Il a incinéré de jeunes chiens quelques heures après leur naissance, avant qu'ils n'aient tété, et a recueilli pendant une quinzaine le lait de la mère. Il a trouvé que dans 100 parties de cendres, il y avait chez le jeune chien 0 gr. 72 et dans le lait de chienne seulement 0 gr. 12 de fer, c'est-à-dire que les cendres du lait étaient six fois moins riches en fer que celles du jeune animal.

Comme l'animal en lactation ne puise pas ailleurs que dans le lait ses éléments minéraux, il semblait donc ou que le fer fût en défaut ou que les autres éléments fussent en excès, et M. Bunge, qui paraît être un téléologiste, ne pouvait être satisfait de ces conclusions. Il a donc cher-

ché et trouvé l'explication de cette contradiction apparente; c'est que le jeune mammifère a fait à sa naissance une provision de fer qu'il distribue ensuite dans ses organes, de sorte que la proportion par kilogramme de poids vivant va en diminuant. Ainsi un jeune chien contient, 10 heures après sa naissance, 0 gr. 111 de fer par kilogramme. Dans un autre chien de la même portée, il n'y en avait plus que 0 gr. 096 après 3 jours, et dans un autre que 0 gr. 079 après 4 jours. Zaleski a fait voir que le foie du chien, débarrassé de son sang par un lavage à l'eau sucrée, était de 4 à 9 fois plus riche en fer dans l'animal nouveau-né que chez l'animal adulte.

M. Bunge donne de ce fait une raison qui semble un peu hypothétique et que nous ne reproduirons pas. Je me contente de faire remarquer que ces différences dans la composition minérale des cendres de l'animal jeune et de l'animal adulte doivent être rapprochées des différences si souvent constatées dans la facilité d'implantation des microbes suivant les âges. Depuis que les expériences de M. Raulin nous ont montré l'importance exceptionnelle des éléments minéraux pour la vitalité des espèces microscopiques, rien dans cet ordre de faits ne peut nous laisser indifférents. Dx.

Lehmann. — Recherches sur le *bacterium phosphorescens* de Fischer. *Centralbl. f. Bact.*, t. V, p. 785.

Ce mémoire comprend une partie morphologique sur laquelle je passe rapidement, parce qu'il est impossible de la résumer. La culture du microbe réussit bien sur les divers milieux à la gélatine, dans le lait, le bouillon, sur la viande cuite, les poissons crus et cuits, les pommes de terre. Elle se fait toujours bien mieux quand on ajoute au substratum environ 3 0/0 de sel marin. Dans les très jeunes cultures dans du bouillon salé, le microbe se présente sous la forme d'un court bacille à bouts arrondis, quelquefois tellement court qu'il prend une forme ovale ou ronde. Ces dernières formes dominent dans les vieilles cultures, et se mélangent de formes d'involution bizarres, en spermatozoïde, en fuseau, etc. On n'a jamais vu de spores, et le bacille est toujours immobile.

C'est à la surface des cultures que la phosphorescence apparaît. Elle exige la présence de l'oxygène. En l'absence de ce gaz, le microbe peut se multiplier, mais ne luit pas dans l'obscurité. Lorsqu'on le cultive sur de la gélatine colorée par du bleu de méthylène, il pousse à la fois à la surface et dans les profondeurs, mais à la surface les bâtonnets sont colorés en bleu; ils sont incolores ailleurs. Quand une fente dans la gélatine permet à l'oxygène de pénétrer, les parties qu'il baigne bleuissent à leur tour. Ceci prouve qu'en l'absence d'oxygène,

les bactéries réduisent le bleu de méthylène. On n'a pourtant pas observé qu'elles puissent devenir des ferments à dégagements gazeux.

La phosphorescence n'exige pas seulement le contact de l'air, elle semble aussi être en rapport avec la dose d'acide. En ajoutant 0 gr. 3 d'acide sulfurique à 10^{cc} de bouillon neutre très phosphorescent, ce qui correspond à 3 0/0 d'acide, la phosphorescence disparaît. Elle reparaît plus faible quand on neutralise avec la potasse, et disparaît de nouveau quand on rend le liquide alcalin.

L'auteur s'est ensuite demandé si la phosphorescence résultait d'un phénomène intracellulaire, ou était due à l'oxydation d'une matière sécrétée par le microbe. Il penche pour la première conclusion, après avoir observé : 1° que le liquide débarrassé des microbes par une filtration, cesse par là d'être phosphorescent; 2° que les températures, et généralement toutes les conditions qui font mourir le microbe détruisent aussi la phosphorescence ; 3° que beaucoup d'antiseptiques, sublimé, acide borique, acide salicylique, acide phénique, chloroforme, éther, alcool, benzol, xylol, sulfure de carbone, etc., sont dans le même cas. S'il y avait une substance photogène sécrétée par le microbe, il serait bien étonnant de la voir sensible à tant d'influences diverses qui, au contraire, ont cela de commun qu'elles font périr plus ou moins rapidement le bacille. Il est donc plus naturel de voir dans sa phosphorescence le résultat d'une action protoplasmique au contact de l'air.

M. Lehmann confirme ces résultats par l'étude de l'action de substances qu'il appelle toxiques et qu'il sépare, je n'ai pu découvrir pourquoi, des substances antiseptiques, à moins qu'il ne prenne ce mot *toxique* au regard des êtres supérieurs. Mais cela même ne serait pas une raison suffisante, comme on peut s'en convaincre une fois de plus par le travail de M. Behring analysé dans ce même numéro. Quoi qu'il en soit, il trouve que l'oxyde de carbone est pour le microbe un gaz aussi indifférent que l'acide carbonique, que l'hydrogène sulfuré le tue rapidement, et qu'en mélangeant à du bouillon phosphorescent un volume égal d'une solution d'alcaloïde, on a les résultats suivants.

Les sulfates de morphine, de caféine, et la saponine paraissent sans action. Le sulfate de strychnine affaiblit beaucoup la phosphorence après deux jours, et la fait disparaître après quatre. Le sulfate de quinine affaiblit la phosphorescence en moins d'une heure, la fait disparaître en 24 heures, et, au bout de deux jours, rend le microbe incapable de se reproduire.

Ce microbe semble n'être pathogène ni pour l'homme ni pour les animaux.

Dx.

Meeting de Mansion-House

Le 1er juillet 1889 a eu lieu à Mansion-House, sous la présidence du lord-maire de Londres, un meeting pour discuter les mesures à prendre contre l'augmentation des cas d'hydrophobie en Angleterre. Après lecture d'une chaleureuse lettre du prince de Galles et d'autres lettres non moins éloquentes de MM. Stokes, Tyndall, Huxley, etc., le meeting, où se trouvait presque tout ce que l'Angleterre compte de savants et d'amis de la science, a voté les résolutions suivantes :

« 1° Le meeting est convaincu de l'efficacité du traitement antirabique découvert par M. Pasteur.

« 2° Le meeting désire exprimer la reconnaissance du peuple de la Grande-Bretagne et de l'Irlande à M. Pasteur et à ses collaborateurs pour l'aide généreuse qu'ils ont donnée à plus de 200 Anglais, mordus par des chiens enragés.

« 3° Le meeting invite le lord-maire à réunir un fonds dans le double but d'offrir une donation convenable à l'Institut Pasteur, et de pourvoir aux dépenses des sujets anglais mordus par des chiens enragés, et qui sont incapables de payer leur voyage à Paris.

« 4° Le meeting, tout en reconnaissant la valeur du traitement de M. Pasteur, et en prenant des mesures pour pourvoir au traitement des personnes qui seront mordues à l'avenir par des chiens enragés dans ce pays, est d'avis qu'on pourrait faire disparaître la rage de ces îles, et invite le gouvernement à présenter sans délai un bill ordonnant le musellement simultané de tous les chiens de la Grande-Bretagne, suivant le plan de la Société de la prévention de la rage, et établissant une quarantaine de durée raisonnable pour tous les chiens importés.

« 5° Le meeting désire offrir ses remerciements cordiaux au lord-maire pour le grand intérêt qu'il a porté à cette œuvre importante et pour avoir présidé dans cette occasion. »

Profitons de cette courte excursion en dehors de notre domaine, pour annoncer la création de deux nouveaux instituts antirabiques, l'un à Mexico sous la direction de M. Liceaga, et l'autre à Bologne, sous la direction de M. le professeur Murri.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de la rage.

Waleley (Patrice), 7 ans, de Newry, Irlande, mordu le 3 mai 1889, par le chien d'un voisin, qui a disparu après avoir mordu cinq autres personnes. Waleley porte à la partie externe de l'avant-bras droit une morsure profonde qui a beaucoup saigné. A la partie inférieure du bras droit, une blessure légère. Sur le dos de la main droite une morsure pénétrante, à la paume de la même main une plaie profonde. Les deux blessures de la main ont donné beaucoup de sang. Cautérisation au crayon de nitrate d'argent une demi-heure après.

Waleley a été mis en traitement le 20 mai, 17 jours après la morsure. Le traitement a pris fin le 3 juin. Le 9 juin, l'enfant est tombé malade, se plaignant de douleurs à la tête. Il est mort le 13 juin.

Personnes prises de rage dans le cours du traitement.

Coudurier (Gustave), 7 ans, de Noyarey, près Grenoble, Isère. Mordu le 9 juin 1889 par un chien venant d'une localité éloignée de 15 kilomètres. Ce chien a mordu une autre personne et deux chiens dans la commune de Noyarey. Le bulbe du chien mordeur, inoculé à des cobayes, leur a donné la rage.

Coudurier porte une blessure dans le cuir chevelu partant du milieu du crâne et aboutissant sur le front à la naissance des cheveux. Elle a sept centimètres de long et a beaucoup saigné. La paupière supérieure droite a été fendue, cette morsure a donné beaucoup de sang.

Les blessures de Coudurier ont été lavées à l'eau phéniquée, une heure après.

Mis en traitement le 15 juin, Coudurier est pris de rage le 24 juin.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE[1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — JUIN 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	»	**2**	»	**1**	**4**	»	»	**1**
Morsures à la tête et à la figure — multiples	»	**2**		»	**3**		»	**1**	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	1	»	»	1	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	3	»	»	1	»	»
Morsures aux mains — simples	»	**3**	**13**	»	**31**	**66**	»	**5**	**9**
Morsures aux mains — multiples		**10**		»	**35**		»	**4**	
Cautérisations efficaces	1	»	»	5	»	»	1	»	»
— inefficaces	1	»	»	31	»	»	2	»	»
Pas de cautérisation	11	»	»	30	»	»	6	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	**5**	**9**	»	**16**	**42**	»	**6**	**20**
Morsures aux membres et au tronc — multiples	»	**4**		»	**26**		»	**14**	
Cautérisations efficaces	»	»	»	3	»	»	2	»	»
— inefficaces	4	»	»	17	»	»	9	»	»
Pas de cautérisation	5	»	»	22	»	»	9	»	»
Habits déchirés	7	»	»	35	»	»	19	»	»
Morsures à nu	2	»	»	7	»	»	1	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»			»	**3**	**3**	»	»	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— inefficaces	»	»	»	2	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	1	»	»	»	»	»
Habits déchirés	»	»	»	2	»	»	»	»	»
Morsures à nu	»	»	»	3	»	»	»	»	»
Totaux. Français et Algériens	..	20	**24**	..	93	**115**	..	27	**30**
Totaux. Etrangers	..	4		..	22		..	3	

A	B	C
TOTAL GÉNÉRAL	**169**	

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 143 fois; chats, 24 fois; cheval, 1 fois; âne, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. AOUT 1889. N° 8

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR UNE NOUVELLE SEPTICÉMIE DU LAPIN,

PAR M. LUCET, VÉTÉRINAIRE A COURTENAY (LOIRET).

Consulté, dans les premiers jours de février 1889, par un cultivateur, possesseur d'un grand nombre de lapins et de cobayes *vivant ensemble*, sur une maladie sévissant sur ces animaux et déterminant une mortalité sensible, je me fis apporter une énorme lapine, non pleine, morte depuis quelques heures et à l'autopsie de laquelle je constatai un léger épanchement péritonéal, de la congestion du foie et une hypertrophie considérable de la rate, qui était noire. Je découvris en outre dans le sang, l'exsudat péritonéal, la pulpe de la rate et du foie, un microbe rond, très abondant. J'entrepris alors des recherches dont voici le résultat.

I

Symptômes et marche de la maladie.

En raison de la rapidité de sa marche, cette affection n'offre pas, le plus souvent, de symptômes bien apparents ; elle frappe à l'improviste : de temps à autre on trouve, dans le clapier infecté, un ou deux morts parmi les lapins qui l'habitent, et qui, la veille encore, paraissaient tous en bonne santé.

Son étude m'a cependant permis d'observer : la perte complète de l'appétit, un essoufflement assez prononcé, une rétrac-

tion sensible des flancs qui fait paraître le lapin amaigri, de la gêne dans les mouvements, quelques tremblements musculaires, des mucosités recouvrant et agglutinant les fèces qui conservent leur consistance, une somnolence de plus en plus prononcée. La tête, dans la dernière période, appuie par le menton sur le sol, l'animal étant en station quadrupédale, mais ramassé sur lui-même, en boule; enfin, il tombe sur le côté, et meurt sans secousses.

La température rectale qui, au début, s'élève et peut atteindre 41° et quelques dixièmes, descend ensuite progressivement, pour n'être plus à l'agonie que de 37, 36 et même 35 degrés.

Expérience I. — Lapin inoculé le 9 mars, à 3 heures 1/2 du soir, avec 10 gouttes d'une 14e culture.

Température avant l'inoculation,	le 9	à 3 h. 1/2	du soir.	39°4	
— après l'inoculation,	—	à 8 h.	—	39°9	
	—	à 11 h. 1/2	—	40°3	
	le 10	à 6 h. 1/2	du matin.	41°	
	—	à 1 h. 1/2	du soir.	41°6	
	—	à 9 h.	—	41°3	
	le 11	à 9 h.	du matin.	40°2	
	—	à 2 h.	du soir.	40°	
	—	à 5 h.	—	38°2	
	—	à 10 h. 1/2	—	38°8	Mort.

Expérience II. — Lapin inoculé le 10 mars, à 2 heures 1/2 du soir, avec 15 gouttes d'une 15e culture.

Température avant l'inoculation,	le 10	à 2 h. 1/2	du soir.	39°3	
— après l'inoculation,	le 10	à 5 h.	—	40°3	
	—	à 11 h.	—	41°1	
	le 11	à 9 h.	du matin	41°7	
	—	à 5 h.	du soir.	38°3	
	—	à 8 h.	—	37°1	
	—	à 11 h.	—	36°3	Mort.

Dans trois autres expériences, la température est descendue à 35°, 36°,4 et 35°,3.

II

Anatomie pathologique.

A l'autopsie des animaux qui ont succombé, le sang est coagulé dans le cœur et les gros vaisseaux, en caillots noirs, friables.

Les reins, le poumon et l'intestin sont habituellement normaux; toutefois, le poumon et la plèvre sont, dans quelques cas, recouverts d'un léger exsudat fibrineux blanc grisâtre, et l'intestin, quelquefois congestionné, renferme souvent des mucosités semblables à celles qui recouvrent ou agglutinent les excréments.

La cavité abdominale contient fréquemment, en petite quantité, un liquide inodore, à peine ambré et sans fausses membranes ; mais celles-ci peuvent exister sur le foie, la rate, les reins, formant alors, principalement sur les deux premiers de ces organes, une légère couche fibrineuse grisâtre.

Presque toujours le foie est volumineux, souvent énorme.

Quant à la rate, siège d'une lésion constante, elle est noire, luisante, bosselée, ferme au toucher et hypertrophiée à un degré quelquefois considérable.

Enfin, lorsque l'inoculation a lieu par effraction dans le tissu cellulaire sous-cutané, il existe toujours, à ce point, un exsudat purulent gris, d'autant plus abondant que la mort survient plus lentement.

Des coupes minces de la rate, pratiquées après durcissement dans l'alcool absolu, colorées au picrocarminate d'ammoniaque de Ranvier, montées dans la glycérine, et examinées au microscope avec un grossissement de 3 à 400 fois, montrent les éléments avec tous leurs caractères normaux, mais masqués, surtout en se rapprochant de l'enveloppe fibreuse, par une grande quantité de globules sanguins, formant par places des amas énormes, et indiquant qu'il s'est produit dans le tissu splénique une abondante hémorragie interstitielle.

Le microscope montre encore, dans le foie, une dilatation des capillaires, remplis de globules du sang ; dans le liquide péritonéal, des globules de pus peu abondants ; et dans l'exsudat recouvrant quelquefois le poumon, la plèvre, le foie ou la rate, des éléments fibrillaires emprisonnant de nombreux leucocytes.

III

Inoculabilité et transmissibilité de la maladie.

Cette affection, inoculable (A), du lapin au lapin, du lapin au cobaye, du cobaye au cobaye, et du cobaye au lapin, suscep-

tible également de se transmettre, au moins chez le lapin, par ingestion (B) et par cohabitation (C), donne, chez la poule, un résultat négatif (D), ce qui, en dehors des cultures, la différencie nettement du *choléra des volailles*.

A

Expérience I. — Le 13 février 1889, à 8 heures du soir, j'inocule un lapin, dans le tissu conjonctif sous-cutané, avec 10 gouttes du sang de la lapine morte de la maladie spontanée dont j'ai parlé plus haut, et que l'on m'a apportée le même jour. Le lapin meurt dans la nuit du 15 au 16. Il existe, au point d'inoculation, une infiltration purulente du tissu cellulaire ; le foie congestionné et la rate énorme, sont recouverts d'un léger exsudat fibrineux gris, dans lequel le microscope révèle la présence d'un microcoque qui se trouve également dans le sang et la pulpe de la rate.

Expérience II. — Le même jour, à la même heure, un cobaye inoculé d'une façon identique avec 10 gouttes de sang de même provenance, est trouvé mort le 14 à 8 heures du matin, avec une augmentation considérable de la rate. Le sang et la pulpe splénique renferment le même microbe que précédemment.

Expérience III. — Le 14 février, à 10 heures du matin, j'injecte sous la peau d'un lapin 10 gouttes de sang du cobaye n° II. Je le trouve mort le 15, à 7 heures du matin, avec les mêmes lésions.

Expérience IV. — Un fort lapin, inoculé le 15 février, à 8 heures du matin, avec 10 gouttes du sang du lapin n° III, est trouvé mort le 17, à 6 heures du matin. Microcoques dans le sang et la pulpe de la rate, qui est hypertrophiée.

Expérience V. — Un cobaye inoculé le 16 février, à 8 heures du matin, avec 10 gouttes de sang du lapin n° I, meurt le 17, à 10 heures du matin ; rate énorme.

Expérience VI. — Avec 10 gouttes de sang du cobaye précédent, n° V, j'inocule, le 17, à 11 heures du matin, un cobaye qui meurt le 18, à 8 heures du matin, avec les mêmes lésions.

B

Expérience I. — Le 5 mars 1889, je donne à deux lapins et à un cobaye de l'avoine arrosée avec 25 cent. cubes d'eau distillée et bouillie, dans laquelle j'ai dilué du sang d'un cobaye mort le même jour, après l'inoculation avec une 9e culture. Un lapin est trouvé mort le 7, et son sang tue un cobaye en 22 heures. L'autre lapin et le cobaye n'ont à aucun moment présenté de malaise.

Expérience II. — Le 19 mars, du son, mouillé avec 30 cent. cubes de bouillon de veau stérilisé, et dans lequel j'ai broyé un fragment de rate d'un

lapin mort le même jour, après l'inoculation avec une 20e culture, est donné à trois lapins et deux cobayes. Un lapin succombe le 21, à 1 heure du soir, avec toutes les lésions caractéristiques de la maladie. L'examen microscopique révèle la présence du microcoque dans le sang, la pulpe du foie et de la rate. Les autres animaux ont résisté.

Expérience III. — Le 2 avril, je donne à deux lapins et deux cobayes, de l'avoine mouillée avec 30 cent. cubes d'eau stérilisée dans laquelle j'ai broyé un morceau du foie d'un lapin mort le même jour, après inoculation faite la veille, avec du sang d'un autre lapin ayant lui-même succombé à l'injection de quelques gouttes d'une 8e culture. Un lapin meurt le 5, à 8 heures du matin, et son sang est virulent pour le cobaye. L'autre lapin et les deux cobayes n'ont rien présenté.

C

Expérience. — Le 27 mars, quatre lapins sont introduits dans une niche non désinfectée, où sont morts des lapins et des cobayes en expérience. Le 30, à 7 heures du matin, un de ces animaux est trouvé mort; un autre meurt le 2 avril. Ces deux lapins ont une hypertrophie de la rate, et leur sang, qui montre au microscope le microbe caractéristique, amène rapidement la mort du lapin ou du cobaye auquel on l'inocule.

Dans ces deux séries d'expériences, B et C, les résultats positifs ont été peu nombreux. En effet, dans la première série, 5 cobayes sur 5, et 4 lapins sur 7 ont résisté à l'ingestion de matières contaminées, et dans la seconde, il n'y a eu que deux morts sur 4 lapins.

Or, les animaux sortis indemnes de ces expériences ayant tous succombé à des inoculations ultérieures, on doit en conclure que la maladie, dans les clapiers infectés, ne frappe que les sujets présentant, soit sur la muqueuse digestive, soit ailleurs, des plaies plus ou moins étendues, par où les microbes peuvent pénétrer dans l'organisme.

Ces résultats ont une grande importance au point de vue et de l'étiologie et de la prophylaxie de cette affection.

D

Expérience I. — Le 9 mars, à 11 heures du matin, j'injecte, dans le tissu cellulaire d'une vieille poule, 15 gouttes de sang d'un cobaye mort le même jour, après inoculation faite le 2 avec 5 gouttes de sang d'un lapin. J'inocule en même temps une quantité égale du même sang à un cobaye. Celui-ci meurt le 4, à 6 heures du matin ; la poule résiste.

Expérience II. — Le 4 mars, une poule de l'année et un cobaye sont inoculés, à 8 heures du matin, avec 15 gouttes du sang du cobaye précédent. La poule ne se montre pas indisposée, mais le cobaye succombe dans la nuit du 4 au 5.

Expérience III. — Le 22 mars, une poule de deux ans et un lapin reçoivent dans le tissu conjonctif sous-cutané, à 8 heures du matin, chacun 15 gouttes de sang d'un lapin, mort ce même jour, après avoir été inoculé le 19, avec une 20e culture. La poule n'est même pas malade, mais le lapin meurt le 24, à 10 heures du matin.

Les résultats de cette dernière série (D) d'expériences permettent donc d'affirmer que cette affection des lapins est absoment distincte du choléra des volailles, ce que déjà, du reste, les expériences des séries précédentes pouvaient faire supposer.

IV

Étude microbiologique.

Le sang, le foie, les reins, la rate, le poumon des lapins ou des

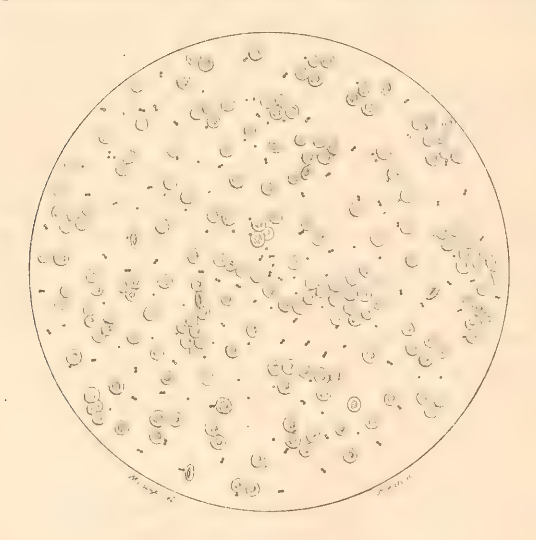


Fig. 1.

cobayes qui succombent, renferment, en grande abondance (voir fig. 1), un petit microcoque immobile, isolé ou associé par deux,

de 0,7 μ à 0,9 μ de diamètre, qui se rencontre également dans les mucosités intestinales, mais que ni l'examen microscopique ni les cultures n'ont pu mettre en évidence, soit dans la bile, soit dans l'urine.

Se colorant bien sur lamelles, avec le violet de méthyle et la fuchsine en solutions aqueuses ordinaires, mais ne résistant pas aux moyens habituels de décoloration (Gram, Weigert, etc...), il est donc très difficile à rendre apparent dans les coupes.

A la fois aérobie et anaérobie, ne se développant ni sur la gélatine, ordinaire ou glycérinée, ni sur la pomme de terre, ce microbe croît très bien sur la gélose et dans le bouillon de veau peptonisé, dont il ne change pas la réaction alcaline.

La température qui paraît le mieux lui convenir est de 37°-38°; toutefois, il se cultive encore, mais lentement, à 18°-20°.

Ensemencé dans du bouillon de veau qu'il trouble d'abord rapidement, il forme au fond du ballon de culture un très léger dépôt blanc, pulvérulent, qui jamais ne devient abondant, et, au bout de quelques jours, donne à la surface du liquide nutritif, qui s'éclaircit, un voile épais, blanc, uni, difficile à diviser, ne tombant au fond du vase, et alors d'une seule pièce, que sous l'influence d'une vigoureuse agitation.

Cultivé sur gélose en surface oblique, il produit une couche blanche, saillante, épaisse, lisse, à bords rectilignes, poisseuse, d'abord brillante et plus tard mate ; et par piqûre, une traînée finement grenue, s'étalant à la surface en un enduit circulaire régulier, épais, présentant les mêmes caractères comme consistance et comme couleur que dans les cultures en surface oblique.

N'ayant à ma disposition aucun des appareils nécessaires pour les cultures soit dans le vide, soit dans un gaz inerte, j'ai dû me contenter, pour reconnaitre le caractère anaérobie de ce microcoque, de le cultiver dans des tubes pipettes, remplis de gélose et fermés à la lampe, suivant le dispositif de M. le D[r] E. Roux. (*Annales de l'Institut Pasteur*, février 1887.)

Dans ce cas il se forme, dans le sillon de l'aiguille inoculatrice, une mince traînée blanche, sans production de bulles gazeuses.

Conservant intactes sa virulence et sa puissance de pullulation, si on a le soin de faire tous les jours ou tous les deux jours une nouvelle culture avec une goutte d'une culture de la veille ou de l'avant-veille, il perd rapidement l'une et l'autre, si on

abandonne une culture active, au contact de l'air, à la température de la chambre ou à celle de l'étuve. Des cultures, en effet, datant de deux mois, sont incapables de se reproduire.

Cette usure du microbe, au contact de l'air, est importante à connaître au point de vue des moyens à opposer à la maladie.

V

Virulence des cultures.

Le microbe isolé est bien l'agent de la maladie.

Des cultures pures du microcoque isolé, faites dans du bouillon de veau peptonisé et alcalin, de deux jours en deux jours, et récentes, transmettent invariablement au lapin la maladie primordiale, et toujours ce même microbe se retrouve dans le sang et les organes des animaux qui ont succombé.

Expérience I. — Le 1er mars 1889, à 3 heures du soir, j'inocule un lapin avec 15 gouttes d'une 9e culture. Je le trouve mort le 2, à 8 heures du matin, avec une rate énorme. Son sang fournit des cultures sur gélose.

Expérience II. — Le 9 mars, à 3 heures et demie du soir, 10 gouttes d'une 14e culture sont injectées à un lapin qui meurt, avec les lésions habituelles, le 11, à 9 heures et demie du soir. De la pulpe de la rate se cultive dans le bouillon de veau, mais ne donne rien sur gélatine.

Expérience III. — Un lapin inoculé le 10 mars, à 2 heures et demie du soir, avec 15 gouttes d'une 15e culture, meurt le 11, à 11 heures du soir. Son sang se cultive sur la gélose.

Expérience IV. — J'injecte, le 19 mars, à 3 heures et demie du soir, 10 gouttes d'une 20e culture dans le tissu conjonctif d'un lapin; il meurt le 22, à 6 heures du matin. Cultures positives avec le foie.

Expérience V. — Le 31 mars, à 9 heures du matin, un lapin de quatre mois est inoculé avec 10 gouttes d'une 25e culture; mort le 2 avril, à 8 heures du matin. Lésions ordinaires et cultures positives avec le sang.

Variations de la virulence.

Le cobaye, qui meurt rapidement après l'inoculation avec quelques gouttes de sang provenant d'un animal de même espèce, ou d'un lapin ayant succombé à la maladie, meurt encore par l'injection d'une culture d'une série peu élevée, mais résiste quand on lui inocule une 13e ou 14e culture.

Expérience I. — Le 1er mars 1889, à 3 heures du soir, j'inocule un cobaye avec 10 gouttes d'une 9e culture ; il meurt le soir, à 9 heures. Cultures positives avec son sang, sur gélose, mais négatives sur la gélatine.

Expérience II. — Le 3 mars, à 10 heures du soir, un cobaye est inoculé avec 10 gouttes d'une 10e culture. La mort a lieu le 4, à 9 heures du soir. Cultures positives.

Expériences III, IV, V, VI, VII. — J'inocule à des cobayes :

Le 8 mars, à 3 heures et demie du soir, 15 gouttes d'une 13e culture ;

Le 10 mars, à 2 heures et demie du soir, 15 gouttes d'une 15e culture ;

Le 12 mars, à 9 heures du matin, 15 gouttes d'une 16e culture ;

Le 19, à 3 heures du soir, 15 gouttes d'une 20e culture ;

Le 31, à 9 heures du matin, 15 gouttes d'une 25e culture.

Aucun de ces animaux n'a succombé, mais tous, cependant, ont été fort malades pendant quelques jours.

Mais le microbe qui est devenu inoffensif pour le cobaye, le tue rapidement après un passage ou deux au plus chez le lapin.

Expérience I. — Un cobaye, inoculé le 23 mars, à 3 heures et demie du soir, avec 6 gouttes de sang d'un lapin mort le même jour après inoculation avec du sang d'un premier lapin, inoculé le 19 avec une 20e culture ne tuant pas le cobaye, meurt le 24 à 8 heures du matin. Son sang et sa rate donnent sur gélose des cultures positives, et sur gélatine des cultures négatives.

Expérience II. — Un cobaye, inoculé le 1er avril avec 8 gouttes du sang d'un lapin, mort le même jour après inoculation avec 10 gouttes d'une 23e culture inoffensive pour le cobaye, meurt le 2 avril, en 26 heures de temps.

Expérience III. — Un cobaye inoculé le 3 avril avec 6 gouttes de sang d'un lapin mort le même jour, après inoculation avec du sang d'un autre lapin, inoculé lui-même le 31 mars avec une 25e culture qui ne tue pas le cobaye, meurt le 4, en 22 heures. Son sang donne des cultures sur gélose.

Cette perte dans les cultures de la virulence du microbe à l'égard du cobaye, virulence qu'il récupère par son passage chez le lapin, indique d'une façon très nette que la maladie est propre à ce dernier, et qu'elle ne se communique au cobaye vivant avec lui qu'après son adaptation à l'organisme du lapin.

Du reste, le passage de l'élément virulent de lapin à lapin, augmente également l'activité de son action pathogène vis-à-vis de ce rongeur.

Expérience I. — Ainsi, tandis qu'un lapin inoculé avec 15 gouttes d'une 15e culture, ne meurt qu'en 33 heures, 10 gouttes du sang de cet animal inoculé à un autre lapin, le 11 mars, à 11 heures et demie du soir, amène la mort le 12, à 5 heures du soir, soit en 18 heures.

Expérience II. — Un lapin inoculé avec 10 gouttes d'une 20e culture meurt en 63 heures, tandis que 10 gouttes de son sang déterminent la mort d'un autre lapin en 22 heures. Inoculation le 22 mars à 6 heures du matin, mort le 23 à 5 heures du matin.

Expérience III. — Un lapin inoculé le 1er avril, à 2 heures du soir, avec 10 gouttes du sang d'un lapin, mort le même jour en 52 heures, après inoculation avec 15 gouttes d'une 24e culture, meurt le 2, à 10 heures du matin, soit en 20 heures.

Enfin, lorsqu'une culture a perdu, par l'âge, une partie de sa virulence, tout en conservant encore la faculté de se reproduire, son inoculation au lapin détermine un abcès n'ayant aucune tendance à s'ouvrir, amenant l'amaigrissement et la mort au bout d'un temps assez long, et dans le pus duquel fourmille le microbe qui, inoculé à un autre lapin, le tue en deux ou trois jours, et récupère vite son activité.

Expérience. — 1° Un lapin inoculé le 20 avril 1889, avec un centimètre cube d'une culture datant du 29 mars précédent, présente, au bout de quelques jours, au point d'inoculation, un abcès bien délimité, grossissant lentement sans s'étendre en largeur et sans s'ouvrir; l'animal maigrit, devient étique, et meurt à la fin de mai.

2° Du pus de son abcès, recueilli purement, dilué dans du bouillon de veau stérilisé, et inoculé le 16 mai, dans le tissu conjonctif d'un lapin, le tue en 64 heures.

3° 10 gouttes du sang de ce dernier animal, inoculées à un cobaye, amènent la mort en 23 heures.

VI

Passage du microbe de la mère au fœtus.

Dans cette affection, le sang et les organes du fœtus sont virulents au même titre que les mêmes produits de la mère.

Le 2 avril, une lapine fort pleine meurt après inoculation ; la matrice renferme 6 fœtus. Avec des instruments stérilisés, j'en extrais un, dont je prends une parcelle du foie que je broie dans un peu d'eau distillée bouillie, et j'injecte :

Expérience I. — 20 gouttes de ce liquide, à 3 heures du soir, à un lapin. Il meurt le 4, à 1 heure du soir.

Expérience II. — 10 gouttes du même liquide, à la même heure, à un cobaye qui meurt le 3, à 1 heure du soir.

Le sang et le foie de ces deux animaux donnent des cultures positives sur gélose.

Le 3 avril, je retire, avec précaution, de la matrice d'une lapine fort pleine, précédemment inoculée et qui vient de mourir, deux fœtus, presque à terme, dont je broie un peu de foie, pris à chacun d'eux, dans deux capsules différentes contenant de l'eau filtrée et bouillie, et j'inocule à 7 heures du matin :

Expérience III. — A un lapin, 15 gouttes du produit contenu dans l'une des capsules : il meurt le 5, à 11 heures du matin.

Expérience IV. — A un cobaye, 10 gouttes du liquide de l'autre capsule. La mort a lieu le 4, à 10 heures du soir.

Du sang recueilli chez ces deux animaux se cultive sur la gélose.

V

Etiologie et Traitement de la maladie.

De ce qui précède, il est facile de tirer des indications quant à l'étiologie et au traitement de cette affection septique.

Etiologie. — Le propriétaire chez qui elle sévissait logeait en liberté ses animaux, au nombre de 40 environ, tant lapins que cobayes, dans un écurie assez vaste, mais dont le sol était recouvert d'une épaisse couche de fumier, dans lequel peut-être le premier lapin atteint a trouvé le microcoque cause de sa mort.

La litière et les aliments communs ayant été alors salis par les déjections du malade, cette septicémie s'implanta dans le local et détruisit les deux tiers des animaux qui l'habitaient, jusqu'au jour où ayant été consulté, je fis isoler ceux qui restaient.

Sa marche fut très irrégulière : après plusieurs cobayes ou lapins frappés coup sur coup, il se passait quelquefois une quinzaine de jours sans aucun décès, puis survenait la brusque réapparition de plusieurs cas nouveaux.

Cette façon de procéder est expliquée par les données expé-

rimentales, qui montrent que tandis que l'inoculation dans le tissu conjonctif amène la mort à coup sûr, l'ingestion du microbe ne tue qu'irrégulièrement, ce qui indique qu'il n'y a infection qu'autant que le tube digestif présente dans un point quelconque une plaie ou une éraillure entamant sa surface de revêtement.

La maladie n'est donc pas contagieuse dans le sens propre du mot, mais seulement inoculable.

Du reste, un fait ayant presque la valeur d'une expérience, vient encore à l'appui de cette manière de voir. Chez le propriétaire dont j'ai parlé, on voyait mourir en effet, sans exception, toutes les femelles, lapines ou cobayes, venant de mettre bas, dans les quelques jours qui suivaient la délivrance, c'est-à-dire pendant le temps où l'infection était possible par les organes génitaux.

Traitement. — Il ne peut être que prophylactique ; s'il est prouvé que la maladie, bien que virulente, ne se transmet que par effraction, et que l'agent virulent perd rapidement son activité au contact de l'air, on peut réduire la prophylaxie aux mesures suivantes : isolement par petits groupes, ou mieux encore complet, des animaux contaminés ; enlèvement des fumiers ; lavages antiseptiques et aération des clapiers infectés, qu'on laisse inhabités pendant quelque temps.

SUR LA NUTRITION INTRACELLULAIRE

(2e mémoire),

Par E. DUCLAUX.

Dans un travail publié en 1887 dans ces *Annales* (V. t. I, p. 145), j'ai été conduit à assimiler les produits d'une fermentation quelconque à ceux qui résultent de la dislocation d'une matière organique sous l'influence du soleil. Cette dislocation paraît surtout commandée par des questions de stabilité des corps nouveaux auxquels elle donne naissance. De même, c'est moins l'influence de la réaction vitale de la cellule ferment que la stabilité des produits de la fermentation, dans les conditions dans lesquelles ils se forment, qui en provoquent la production.

Comme il n'y a rien d'absolu dans la stabilité vis-à-vis de l'action solaire, et comme il arrive qu'un corps, formé pendant la durée d'une combustion à la lumière, peut disparaître quand elle se termine et n'avoir ainsi qu'une existence intérimaire, il arrivera de même que des microbes pourront dédoubler une substance organique complexe en corps nouveaux qui n'auront qu'une existence temporaire, et auront disparu à la fin de la fermentation.

Le premier exemple authentique de ce fait a été mis en lumière par M. Pasteur dans son *Mémoire sur la fermentation acétique*. On y voit que l'acide acétique est un produit intérimaire de l'action du *mycoderma aceti* sur l'alcool, qui est finalement transformé, si on laisse l'action du microbe s'épuiser, en eau et en acide carbonique.

De nombreux faits du même ordre sont venus s'ajouter à celui-ci. Je citerai seulement, à cause de leur importante théorique, ceux que j'ai publiés au sujet de la formation intérimaire d'acide oxalique pendant l'action de l'*aspergillus niger* sur des corps très divers. On voit bien là que l'acide oxalique se forme, non pas

parce qu'il existe, en quelque sorte à l'état virtuel, dans la molécule du corps qui se détruit, comme l'acide acétique dans celle de l'alcool, mais parce qu'il forme intrinsèquement un groupement stable dans la destruction moléculaire de corps très variés de constitution. Il est, vis-à-vis des ferments, l'équivalent exact de ce qu'est l'acide formique vis-à-vis des combustions solaires, un corps très stable qui dès lors reparaît fréquemment. Il y a même ce côté curieux que l'acide oxalique, très stable vis-à-vis des divers ferments, est très instable vis-à-vis de l'action solaire, et que l'acide formique, très stable vis-à-vis de l'action solaire, semble être très instable sous l'action des ferments, dont aucun n'en produit en quantités sensibles, tandis que l'acide acétique et les autres acides gras, relativement stables, se rencontrent dans un grand nombre de fermentations.

Toutefois, dans l'exemple du *mycoderma aceti* comme dans celui de l'*aspergillus niger*, et sans méconnaître les nuances qui existent entre eux, il ne s'agit, dans les deux cas, que d'un phénomène de combustion. La plante vit à l'air, lui emprunte son oxygène; la transformation qu'elle produit est exothermique. Il serait intéressant d'examiner au même point de vue les transformations endothermiques, les fermentations avec dégagement gazeux, et de voir si elles sont analogues aux transformations endothermiques qu'on peut déterminer sous l'influence de la lumière du soleil.

A ce point de vue, l'étude des levures s'impose d'elle-même. Que faut-il penser des produits principaux d'une fermentation alcoolique, l'alcool, la glycérine, l'acide succinique? Sont-ce des produits définitifs auxquels ne pourra plus toucher la levure qui les a produits? ou bien cette levure pourra-t-elle les consommer et les détruire après les avoir formés, en l'absence d'un aliment autre ou mieux approprié? Et alors, quelle allure nouvelle prend sa nutrition intracellulaire?

A ces questions, la science ne fait encore aucune réponse précise. On ne peut pas arguer, en effet, pour les résoudre, de ce que la composition d'un liquide alcoolique semble rester invariable dès que la fermentation y est terminée, ou du moins de ce que les réactions qui peuvent s'y produire, éthérifications ou combustions, sont d'ordre purement chimique. On pourrait répondre que les actions de la levure sur les produits de la fer-

mentation sont, suivant toute probabilité, si elles existent, des actions lentes; que les liquides alcooliques ne restent pas d'ordinaire en contact avec les levures qui les ont produits; qu'ils tuent rapidement, soit par leur acidité, soit par privation d'oxygène, les cellules de levure que les soutirages n'en éliminent pas; enfin que l'alcool, la glycérine, l'acide succinique, sont tous des corps dont le dosage est approximatif, de sorte que les éléments manquent pour décider si, oui ou non, la composition du liquide alcoolique varie avec le temps.

I.

Action de la levure sur la glycérine qu'elle a produite.

J'ai cru pouvoir faire servir, à l'étude d'une des faces de la question ci-dessus, les matériaux dont j'ai parlé dans mon récent Mémoire sur la durée de la vie chez les levures (V. ce vol.), c'est-à-dire ces anciens liquides de fermentation alcoolique conservés depuis 15 ans environ en présence de l'air, dans des ballons où l'évaporation du liquide et le renouvellement de l'oxygène étaient lents, mais assurés. J'y trouvais réunis les avantages de la durée, du long contact des levures, qui n'avaient pas été éliminées. En outre, quelques-uns de ces liquides étaient des bières, dans lesquelles les levures continuaient à avoir à leur disposition les dextrines qu'elles avaient respectées pendant la première fermentation; d'autres étaient des eaux sucrées fermentées, dans lesquelles la levure n'avait guère pour vivre que les matériaux divers qu'elle avait déjà rejetés dans le liquide extérieur, en y faisant fermenter le sucre.

En regard de ces avantages, il y avait quelques inconvénients. Le plus grave en apparence est que l'on ne pouvait étudier ainsi que l'action de la vie aérobie, qui succède à la période de fermentation, sur les produits de cette fermentation, et non, comme il serait souhaitable, l'action de la vie de ferment de la cellule sur les matériaux que cette vie élabore dans sa première période. Mais cette partie du problème semble insoluble s'il est prouvé, comme je crois l'avoir fait, que la levure périt rapidement à l'abri de l'air, dans un liquide qu'elle a fait fermenter. Il faudrait, pour pouvoir manifester son action sur les produits de la première fer-

mentation, en exagérer la proportion par rapport au sucre, et alors on rencontrerait des difficultés de dosage devant lesquelles j'ai dû m'arrêter.

Les petites quantités d'oxygène qui pénétraient dans les ballons dont je me suis servi ont préservé la levure contre la destruction ; d'un autre côté, cette pénétration d'oxygène avait comme corollaire obligé une évaporation du liquide, lente il est vrai, mais dont le résultat n'en était pas moins de mettre hors de portée toute recherche sur l'action de la levure sur l'alcool qu'elle avait produit. Il fallait donc se borner à l'action sur la glycérine et l'acide succinique, et comme, sauf dans un petit nombre de cas, on ne connaissait pas les quantités originelles de ces deux substances, la seule chose à rechercher est si elles avaient conservé depuis 15 ans leur proportion normale l'une par rapport à l'autre, c'est-à-dire s'il y avait environ de 4 1/2 à 5 fois plus de glycérine que d'acide succinique. Au cas où les deux substances auraient été atteintes simultanément et dans leurs proportions normales, cette étude, la seule qu'il me fut permis de faire pour quelques ballons, n'aurait rien donné. Mais cette attaque simultanée et proportionnelle des deux produits de la fermentation primaire n'était rien moins que probable, étant donnés les résultats de mes études sur l'action solaire, et on va voir qu'en effet elle ne s'est pas produite, et que la glycérine a toujours été atteinte en bien plus fortes proportions que l'acide succinique.

Comme je voulais comparer la proportion actuelle de ces deux corps à leur proportion normale après la fermentation, telle qu'elle résulte des travaux de M. Pasteur, j'ai naturellement adopté les méthodes de dosage proposées par ce savant, méthodes qui, un peu défectueuses dans le cas des bières et des vins, sont en revanche très suffisantes pour les liquides artificiels de fermentation, ne renfermant guère d'extrait sec et de matières colorantes. J'ai dû pourtant renoncer à terminer mes dosages de glycérine par un séjour de 24 heures dans le vide sec, à la température ordinaire, parce que j'ai reconnu que même dans ces conditions, il y a des pertes par évaporation. J'ai trouvé plus court et tout aussi sûr de surveiller à la balance, en le pesant de quart d'heure en quart d'heure, le résidu sirupeux de glycérine obtenu à la façon ordinaire et maintenu au bain-marie d'eau bouillante. Tant que

ce résidu contient de l'eau, la perte est sensible de quart d'heure en quart d'heure, et elle diminue constamment. Elle tombe à un ou deux milligrammes tout au plus, et elle reste constante dès qu'il n'y a plus que de la glycérine. On prend comme poids de cette substance le poids trouvé au commencement de la période de décroissements réguliers. Il est clair qu'on perd ainsi la glycérine évaporée pendant qu'il y avait encore de l'eau, mais la quantité en est toujours faible, et toutes les corrections qu'on pourrait faire pour l'évaluer sont approximatives. Il faut passer condamnation sur ces pertes, que n'évite aucun procédé de dosage direct, et qui d'ailleurs restent négligeables quand la quantité de glycérine dépasse 200 à 300 milligrammes. Comme d'ailleurs il ne s'agissait dans mes expériences que d'une comparaison entre deux dosages faits par la même méthode, l'influence de ces pertes s'atténuait encore.

Pour des raisons du même ordre, j'ai simplifié le dosage de l'acide succinique en comptant comme tel tout l'acide contenu dans l'extrait éthéro-alcoolique, et mesuré par un dosage à l'eau de chaux. On sait que cette méthode exagère un peu la proportion d'acide succinique, mais ici encore les causes d'erreur provenant de ce fait sont négligeables.

Il y a d'ailleurs un moyen de se donner là-dessus toute sécurité, c'est de voir ce que donnent ces procédés de dosage appliqués à l'étude de ceux de mes liquides dans lesquels la levure était morte. On devait avec eux se rapprocher d'autant plus du chiffre normal pour le rapport de la glycérine à l'acide succinique que la mort de la levure était de date plus ancienne.

A ce point de vue, les n°s 11, 17 et 18 de mon premier mémoire étaient à étudier les premiers, comme étant à la fois les plus acides et les plus alcooliques parmi ceux qui ne renfermaient que de la levure morte. Il était probable que c'était dans ces ballons que la date de la mort de la levure était la plus reculée. Voici pour ces ballons les résultats de l'expérience. Tous les nombres qui s'y trouvent sont rapportés au litre.

N° du ballon.	Age.	Glycérine.	Acide succin.	Rapport.
11	15 a. 3 m.	3,33	0,70	4,7
17	15 a. 6 m.	4,47	0,92	4,8
18	15 a. 6 m.	1,43	0,30	4,8

On voit que le rapport de la glycérine à l'acide succinique est bien le rapport normal. Mais il y a plus à remarquer. Les n°s 11 et 17 avaient originairement contenu de ce liquide sucré à 10 pour cent de sucre, et acidulé avec de l'acide tartrique, dont j'ai rappelé dans mon mémoire précédent que M. Pasteur se servait pour épuiser ses levures. Ces liquides étaient inégalement évaporés, et leur volume actuel correspond à des volumes initiaux différents, mais on voit qu'ils contiennent tous deux, en moyenne, 4 grammes de glycérine et 0^{gr},8 d'acide succinique pour 100 grammes de sucre fermenté. C'est à bien peu près la proportion normale. Ils sont donc tels qu'ils étaient au lendemain de la fermentation.

Le ballon n° 18, où il y a le moins d'acide succinique et de glycérine, renfermait une levure différente, la levure caséeuse, ayant agi non sur un liquide sucré, mais sur de la bière. On voit que pour ce ballon, le rapport de la glycérine à l'acide succinique est encore normal.

Voici maintenant des ballons pour lesquels ce rapport va en diminuant d'une façon qui ne laisse aucun doute sur la disparition, dans les derniers, de la glycérine qui y avait existé à l'origine.

N° du ballon.	Age.	Glycérine.	Acide succin.	Rapport.
22	11 ans	1,20	0,47	2,6
19	15 ans	2,03	0,75	2,7
8	15 a. 6 m.	1,15	1,10	1,0
24	15 ans	0,20	0,88	0,2

Les deux ballons n°s 22 et 19 contenaient de la levure morte. Mais la mort avait été sans doute plus tardive que dans les précédents, et la levure avait pu consommer une partie de la glycérine.

Les n°s 8 et 24 contenaient, au contraire, de la levure vivante. On voit que pour les deux le rapport de la glycérine à l'acide succinique est très inférieur au chiffre normal, et même que pour l'un d'eux la glycérine a à peu près disparu. L'augmentation notable du chiffre de l'acide succinique pour le ballon n° 8 tient à ce que ce ballon, très petit, avait subi une évaporation beaucoup plus forte que les autres, qui avaient plus d'un litre.

Tous ces ballons renferment d'ailleurs des levures différentes,

ce qui semble prouver que la nature de la levure n'est pour rien dans le phénomène.

Il semble donc naturel de conclure de ce qui procède que la levure, soumise à une vie aérobie dans le liquide qu'elle a fait fermenter, y détruit peu à peu la glycérine qu'elle a produite en y respectant l'acide succinique. Les n°s 19 et 24 renfermaient en effet, à l'origine, de l'eau sucrée à 10 0/0, et la proportion d'acide succinique qu'ils contiennent encore est, en tenant compte de l'évaporation, à peu près la proportion normale, alors que la glycérine a commencé à disparaître pour l'un, et a tout à fait disparu pour l'autre.

Sous ce rapport, la dextrine des bières, que la levure n'attaque pas dans le cours de la fermentation, se comporte comme la glycérine, c'est-à-dire qu'elle est attaquée peu à peu si la levure peut mener ensuite une vie aérobie. Un poids de 2^{gr}.265 d'une dextrine restée 15 ans en présence de levure vivante, précipitée par l'alcool, redissoute dans l'eau, et ensemencée avec cette même levure rajeunie, s'était réduit au bout d'un mois d'étuve, à 2^{gr},160. La levure ensemencée s'y était développée, mais péniblement, en y présentant les grosses vacuoles qui sont un signe de souffrance, et son poids au bout du même temps s'était élevé à 0^{gr},034 il y avait donc eu environ : un de plante produite pour 3 de dextrine disparue. C'est à peu près le rapport qui convient aux végétaux microscopiques menant une vie aérobie.

II.

Modifications du globule de levure sous l'influence de la vieillesse.

Avec ce que nous venons d'apprendre, nous avons le droit de nous poser la question suivante : Que devient en vieillissant, dans le milieu qu'il a fait fermenter, le globule de levure soumis non pas à l'inanition, mais à l'alimentation difficile que traduit cette diminution lente dans le poids de la dextrine ou de la glycérine ? Le conséquence de cette vie longuement continuée dans un milieu pauvre est évidemment une désassimilation continue. Jusqu'à quelle limite peut-elle être poussée sans que le globule meure ? Jusqu'à quel taux par exemple peut descendre la

richesse en azote, qui dans le globule jeune, normal et bien nourri, est comprise entre 8 et 10 0/0?

A côté de cette question s'en pose une autre. Lorsqu'on examine ces levures vieillies, on voit dans un très grand nombre de globules des granules réfringents qui ressemblent à des gouttelettes de matière grasse, et qui s'extravasent en effet, en conservant ce caractère, quand on traite sous le microscope la préparation d'abord par l'alcool puis par l'éther. Jusqu'à quel niveau peut s'élever la proportion de ces matières grasses, manifestement plus copieuses que dans le globule normal, qui n'en contient pas plus de 3 à 5 0/0 ? Mais ce n'est pas tout, et à cette formation de matière grasse se rattache encore une question fort curieuse.

J'ai prouvé, je crois, dans un travail antérieur (V. ces *Annales*, I. t, p. 347) qu'on ne savait rien encore sur l'origine des matières grasses des êtres vivants. Sont-elles formées sur place et de toutes pièces au moyen d'actes digestifs portant sur des matériaux albuminoïdes ou non azotés? Proviennent-elles de la migration des matières grasses contenues dans tous les aliments, matières qui, dans ces migrations qu'elles commencent en nature, subiraient peu à peu, par oxydation ou autrement, des modifications faibles, mais suffisantes pour produire la grande variété de substances grasses qu'on trouve chez les êtres vivants.

A cette question s'en relie à son tour une autre qui va nous ramener à nos levures. Dans les cellules de divers organes qui vieillissent ou sont soumis à des actions pathogènes, on voit souvent apparaître une dégénérescence grasse provenant du dépôt, à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule, de gouttelettes graisseuses abondantes. D'ou viennent ces corps gras? Proviennent-ils d'une métamorphose subie sur place par le contenu azoté du protoplasma de la cellule? ou bien y a-t-il encore ici immigration de matières venues de l'extérieur, et se transportant d'un point à l'autre dans un corps où le sang circule, et où la migration en général est un phénomène physiologique?

La solution de ces questions est entourée de difficultés dont n'ont pas eu conscience un certain nombre des savants qui les ont abordées. La plus grande est le dosage du corps gras qui peut être contenu dans un tissu, à l'extérieur et surtout à l'intérieur d'une cellule. On sait aujourd'hui qu'une matière grasse émul-

sionnée, et réduite ainsi à l'état de très fines gouttelettes, résiste à l'action de ses dissolvants ordinaires. Or, c'est l'état sous lequel elle se trouve dans tous les tissus, et surtout dans toutes les cellules jeunes, actives et en voie de formation. Quand elles vieillissent, la matière grasse s'y condense en gouttelettes plus grosses et plus facilement saisissables par le sulfure de carbone ou par l'éther. On peut donc être ainsi conduit, si on ne fait pas attention à cette cause d'erreur, à admettre que la quantité de matière grasse a augmenté dans une cellule ou dans un tissu, alors qu'en réalité elle y est restée stationnaire.

Il faut, pour éviter cette cause d'erreur, faire pour la matière grasse émulsionnée ce qu'on fait dans le procédé Marchand pour l'analyse du lait, c'est-à-dire mélanger, à l'éther employé comme dissolvant, une certaine quantité d'alcool qui en assure le contact intime avec la matière grasse. Quand cette matière grasse est contenue à l'intérieur d'une cellule, il faut commencer par détruire les parois de cette cellule en la chauffant avec de l'acide chlorhydrique concentré, comme l'a montré M. Nægeli.

Supposons maintenant qu'on ait pu conclure légitimement ainsi qu'il y a augmentation de la matière grasse dans le tissu ou dans la cellule : avant de conclure que la matière grasse s'est formée sur place, il faut prouver qu'elle n'a pu venir de l'extérieur. C'est une démonstration qu'il est bien difficile, sinon impossible de fournir pour un animal un peu compliqué, à cause de la circulation constante dans son intérieur de leucocytes ou au moins d'une lymphe contenant toujours des globules gras finement émulsionnés.

Aurait-on enfin conclu que le corps gras se forme sur place que le mécanisme de sa formation resterait très délicat à saisir, parce qu'on n'est pas maître des conditions de nutrition des cellules d'un tissu d'un animal supérieur.

Cette difficulté n'existe pas, au moins au même degré, pour les cellules d'un microbe, par exemple pour celles de la levure, auxquelles on peut offrir un milieu connu dans sa composition. Mes levures conservées depuis 15 ans dans de la bière, ou dans un liquide artificiel qu'elles avaient fait fermenter, n'y avaient eu que des aliments bien connus, toujours les mêmes pendant cette longue période, et, avec elles, le problème général discuté plus haut se résumait en deux questions très simples.

1° Y avait-il eu augmentation avec le temps de la quantité de matière grasse existant à l'origine dans le dépôt de levure du ballon d'expérience?

2° Dans le cas où il faudrait répondre oui à cette question, à quelle source a été empruntée cette matière grasse? Est-ce à la matière azotée du globule? Est-ce aux éléments hydrocarbonés du globule ou de la liqueur?

Voyons ce que l'expérience répond à ces deux questions :

A. — *Il y a augmentation de la matière grasse du globule de levure.*

Pour résoudre la première question, il fallait doser la matière grasse dans les globules vieux et dans les globules rajeunis de la même espèce. Pour ces derniers, j'ai appliqué la méthode de Nægeli, et après m'être assuré qu'elle donnait à peu près partout les mêmes résultats, j'ai considéré, de parti pris et sans vérification nouvelle, que les levures jeunes des espèces étudiées ne renfermaient pas plus de 5 0/0 de corps gras. Les variations au-dessous de ce chiffre maximum dépendent de causes complexes sur lesquelles je reviendrai peut-être.

La proportion dans les levures vieillies est bien plus considérable, comme on le verra dans le tableau plus bas. Elle est même assez grande, et les globules gras assez gros pour qu'on puisse dégraisser la levure par un simple mélange d'alcool et d'éther, sans recourir à la méthode de Nægeli, qui est plus longue. Il suffit, après avoir bien essoré la levure, de la broyer dans un mortier avec un peu d'alcool, de façon à faire du tout un mélange homogène, qu'on additionne ensuite d'alcool en broyant à nouveau, puis d'éther, de façon à ce que le mélange contienne environ 1 d'alcool et un et demi à 2 d'éther. On enferme le tout dans une longue éprouvette, assez large d'ouverture pour qu'on puisse y introduire, au moment de décanter, un tube de porcelaine dégourdi ou une bougie Chamberland, communiquant avec un flacon dans lequel on fait le vide; on aspire ainsi le liquide, et la levure se collant aux parois du tube, s'y dessèche par capillarité, de façon à ne retenir que de très faibles quantités du mélange éthero-alcoolique. On simplifie ainsi et on accélère les lavages, si bien qu'un second traitement suffit d'ordinaire à tout

enlever. Le liquide dissout, outre la matière grasse, une matière extractive très azotée qu'on sépare suffisamment en évaporant et en reprenant par un peu d'éther pur qu'on évapore ensuite. La pesée du résidu, faite avec les précautions ordinaires, donne la matière grasse.

Cela posé, voici un tableau donnant la proportion centésimale de matières grasses trouvées par cette méthode dans les levures de divers ballons, dont les numéros concordent avec ceux de mon mémoire, déjà cité, du présent volume. A côté du numéro du ballon, on a indiqué, au moyen de l'initiale M ou V, si la levure qui y était contenue était morte ou vivante. A côté de la colonne correspondant à la matière grasse, on a placé les teneurs centésimales d'azote pour les mêmes levures. Ces derniers chiffres vont nous servir tout à l'heure.

Ballons.	Age.	Corps gras.	Azote.
1 V.	17 ans.	10,4	»
2 V.	15 a. 6 m.	14,4	2,68
3 V.	Id.	13,8	2,73
4 V.	Id.	13,5	3,76
11 M.	15 a. 3 m.	22,5	4,32
17 M.	15 a. 6 m,	17,0	»
18 M.	Id.	5,3	5,08
19 M.	15 ans.	22,2	»
20 V.	Id.	52,0	»
21 V.	Id.	32,0	»
24 V.	Id.	13,2	3,60

On voit, en prenant uniformément 5 0/0 pour la valeur maximum de la matière grasse dans la levure jeune, que cette proportion a beaucoup augmenté. Cette augmentation est la plus faible pour les levures 1, 2, 3, 4, toutes vivantes et appartenant toutes à l'espèce *saccharomyces pastorianus*. Les levures 11, 17 et 18 échappent à la comparaison parce qu'elles étaient mortes depuis des temps variables, mais probablement assez longs (V. plus haut). Dans la levure n° 20, encore vivante après 15 ans, la proportion de matière grasse s'élevait même à 52 0/0, plus de la moitié du poids du globule sec, et cette proportion s'élève encore si l'on songe que, au microscope, tous les globules ne renfermaient pas de granules gras, et quelques-uns semblaient vides. Il faut

donc admettre que toutes les espèces de levures ne sont pas également aptes à subir cette dégénérescence grasse.

Avant de passer à l'examen de la 2e question, celle de l'origine de cette matière grasse nouvelle, il importe de se faire une idée de ses propriétés. Celle que j'ai le plus étudiée sous ce rapport est celle du ballon n° 1. Il y en avait $3^{gr},760$, provenant de $36^{gr},4$ de levure sèche. Elle formait une masse noire tout à fait analogues comme aspect à la matière grasse oxydée qu'on trouve dans les vieux fromages. En la traitant par un peu d'alcool, on arrivait à la séparer en deux portions, l'une plus noire, très soluble dans ce liquide, et composant 73 0/0 de la masse totale, l'autre presque insoluble, transparente et d'un jaune de cire, formant 27 0/0 du poids total.

La portion soluble dans l'alcool était presque tout entière à l'état d'acides gras, solubles à froid dans une solution étendue de potasse, et donnant un savon soluble dans l'alcool et insoluble dans l'éther. Elle renfermait une notable portion d'acides oxyoléiques que je n'ai pas essayé de séparer, me contentant de ce nouvel élément d'assimilation avec les acides oxyoléiques du vieux fromage.

La portion insoluble dans l'alcool était un corps gras véritable, saponifiable à chaud par la potasse concentrée, et se comportant alors comme la matière grasse des vieux fromages. Mais cette ressemblance n'est pas de l'identité. La matière grasse de la levure vieillie ressemble plus à une cire que celle du lait. Elle renferme beaucoup moins d'acides volatils. Je n'y ai trouvé dans un cas que 3 0/0 d'acide butyrique. La proportion d'acides volatils est beaucoup plus grande dans la portion saponifiée spontanément. Elle peut atteindre 20 à 25 0/0. La saponification commence donc ici, comme dans le fromage, par les glycérides à acides volatils.

Tout cela semble indiquer que le procès de saponification et d'oxydation se fait par voie purement chimique, en dehors de toute intervention de la vie cellulaire. On trouve en effet des levures pour lesquelles il n'est pas commencé, sans doute par suite des conditions de conservation. Nous n'avons donc à nous préoccuper que du mode de production de la matière grasse non oxydée qui, elle, est incontestablement un produit de la vie cellulaire.

Et nous arrivons ainsi à notre seconde question. D'où provient cette matière grasse? Elle ne peut résulter ici d'aucun apport par le milieu ambiant, qui n'en renferme pas ; viendrait-elle d'une transformation de la matière azotée, du protoplasma de la cellule? ou faut il en chercher l'origine dans l'action de la levure sur un ou plusieurs des éléments non azotés du liquide ambiant ?

II. — *D'où provient le corps gras qui envahit l'intérieur du globule de levure.*

Pour savoir si c'était de la matière azotée du protoplasma que provenait la matière grasse, il n'y avait qu'à chercher ce que ces levures vieillies renfermaient encore d'azote, en comparaison de ce que contenaient de ce corps les mêmes levures rajeunies, après avoir présidé à une fermentation de moût de bière.

La proportion d'azote dans ces conditions est variable d'une levure à l'autre, et même d'une fermentation à une autre lorsque la levure est identique, suivant la nature du liquide de fermentation, et suivant qu'on fait l'expérience plus ou moins longtemps après que la fermentation est terminée. Dans une fermentation faite sur du moût de bière avec la levure du ballon n° 11, j'ai trouvé, par la méthode Kjeldahl, 8,93 0/0 d'azote dans la levure, 3 jours après la fin complète de la fermentation. C'est un chiffre qui est d'accord avec tous ceux qui ont été publiés ; on peut admettre qu'en moyenne, à la fin d'une fermentation dans un liquide approprié, la levure renferme 8 à 10 0/0 d'azote.

Les nombres qu'on trouvera ci-dessus montrent que cette proportion s'abaisse beaucoup dans les levures vieillies, et peut tomber au quart de la proportion normale. N'est-il pas curieux, pour le dire en passant, de voir que la levure n° 2, par exemple, était encore vivante alors qu'elle ne contenait environ que le quart de l'azote, et par conséquent le quart environ des matières azotées qu'elle contient à l'état normal? Cela révèle de sa part une élasticité de vie tout à fait imprévue, à moins qu'on ne dise, ce qui serait non moins imprévu, que les trois quarts de la matière azotée qu'elle contient à l'état normal sont en quelque sorte une réserve alimentaire, non indispensable au maintien de la vie.

Quoi qu'il en soit, une perte moyenne de 6 pour cent d'azote, dans la matière albuminoïde de nos levures vieillies, correspond à la mise en disponibilité de 20 pour cent environ de carbone, pouvant servir à la production de 30 pour cent de matières grasses. C'est un chiffre inférieur à quelques uns de ceux du tableau ci-dessus. Si on songe en outre que l'azote perdu ne disparait pas en nature, qu'on le retrouve dans le liquide en combinaison avec des quantités encore notables du carbone qui l'accompagnait dans la matière albuminoïde, on jugera encore plus impossible d'attribuer la matière grasse du globule vieilli à une transformation *in situ*, à une sorte de métamorphose régressive, pour employer le mot qui a si souvent servi, des matériaux azotés du protoplasma.

Après avoir mis hors de cause les matériaux azotés de l'intérieur du globule, on peut éliminer aussi les matériaux azotés venant de l'extérieur. Il suffit de remarquer que cette production de matière grasse se fait aussi, d'après le tableau, sur des levures soumises à un épuisement méthodique au moyen d'eau sucrée pure. Le nº 24, par exemple, contenait une levure qui avait été ensemencée dans une solution de sucre pur additionnée de sels minéraux, le 21 janvier 1875. Il n'y avait donc en fait de matières azotées, dans le liquide, que celles que la levure avait fabriquées elle-même, et cela n'avait pas empêché la quantité de matière grasse de s'élever à plus de 15 p. 0/0, sur un poids de levure de 2^{gr}, 830.

Nous voici donc amenés, par voie d'exclusion, à rechercher l'origine de cette matière grasse dans les aliments hydrocarbonés de la levure. Ceux-ci, en effet, sont seuls présents en quantité suffisante pour expliquer le phénomène, et le premier qui se présente à l'esprit est précisément la glycérine, dont nous avons vu plus haut que la levure pouvait se nourrir quand la fermentation est terminée.

Dans le ballon nº 24 dont nous venons de parler, il y avait environ 2 litres et demi de liquide ayant contenu à l'origine environ 250 grammes de sucre, dont la fermentation avait donné de 7 à 8 grammes de glycérine, dont la plus grande partie avait disparu, nous l'avons vu, pendant les 15 ans écoulés depuis la fin de la fermentation. Le poids de levure au bout de ce temps était seulement de 2^{gr},830, contenant seulement 0^{gr},430 de corps

gras, c'est-à-dire environ 1/15 du poids de la glycérine consommée. D'une manière générale, le poids de la glycérine est d'environ 3 0/0 du poids du sucre, et celui de la levure de 1 à 2 0/0 de ce poids. Il y a donc toujours plus de glycérine que de levure, et à plus forte raison, que de matière grasse de la levure.

Après la glycérine il faut évidemment placer la dextrine quand il y en a : nous avons vu en effet plus haut que la levure pouvait aussi consommer cet hydrate de carbone.

Mais ce n'est pas tout. La levure, en continuant à vivre dans ces conditions, peut non seulement emprunter au liquide extérieur ses aliments nutritifs, elle digère encore et fait disparaître de ses propres tissus des matériaux hydrocarbonés. On connaît bien maintenant le phénomène que M. Pasteur avait étudié, dans son célèbre Mémoire sur la fermentation alcoolique, sous le nom de *vie prolongée du globule de levure*. Dans un liquide en fermentation, le globule se gonfle et se remplit de glycogène qu'il fait disparaître à la fin de la fermentation, lorsque le sucre s'est fait rare ou absent autour de lui. M. Pasteur avait vu en outre qu'il pouvait détruire en partie son enveloppe de cellulose, si bien qu'en traitant de la levure par une solution chaude de potasse, qui rend soluble la presque totalité du protoplasme azoté, on trouve un résidu, compté comme cellulose, et dont la proportion va en diminuant à mesure que la levure est étudiée de plus en plus tard après la fin de la fermentation.

Il était intéressant de rechercher jusqu'où ce phénomène d'auto-digestion avait été poussé après 15 ans de vie de la levure. Pour faire cette recherche dans des conditions de sécurité aussi grandes que possible, j'ai traité pendant le même temps, 8 heures environ, par la même solution de potasse a 5 0/0, et à la même température du bain-marie a eau bouillante, des poids égaux de la levure extraite du ballon du n° 24, et de cette levure régénérée et rajeunie par un passage au travers de moût de bière. Cette dernière a été étudiée une huitaine de jours après la fermentation : on y a trouvé 15,1 0/0 de cellulose. Il n'y avait que 5,9 0/0 de cellulose dans la levure vieillie.

Voilà donc une seconde source de matière alimentaire pour la formation de la matière grasse, qui serait évidemment insuffisante à elle seule s'il n'y avait pas la glycérine et la dextrine, mais qui vient s'ajouter à ces deux matières alimentaires.

Remarquons d'ailleurs que cette formation de matière grasse par la levure n'est pas un phénomène biologique nouveau, en rapport avec l'état de vieillesse du globule : c'est seulement l'exagération d'un phénomène biologique normal. De la levure ensemencée dans un milieu ne renfermant que du sucre et des éléments minéraux s'y multiplie, et s'y crée, au fur et à mesure, aux dépens du sucre, la matière grasse dont elle a besoin. Seulement, a mesure qu'elle vieillit dans un milieu peu favorable, cette matière grasse s'accroît, et finit par prendre la forme de gros granules visibles au microscope. C'est en somme quelque chose de très analogue à la dégénérescence grasse de certains tissus, dans laquelle on a le droit de voir aussi une forme particulière de déviation de l'alimentation hydrocarbonée de la cellule.

C'est dans cet ordre d'idées qu'on est autorisé à chercher aussi le mécanisme de la formation de l'aposépédine. On sait en effets que les corps qui subissent le plus facilement ce phénomène sont ceux qu'une cause quelconque préserve de la putréfaction, et par conséquent ceux dans lesquels la vie individuelle des cellules des tissus se prolonge le plus longtemps.

En terminant je voudrais répondre d'avance à une objection que me feront peut-être ceux qui liront attentivement ce mémoire. On pourrait me dire que le fait d'avoir retrouvé dans mes ballons des levures vivantes ne témoigne pas que tous les globules d'un même ballon soient encore vivants, et que par conséquent, il peut se faire que les globules remplis du corps gras soient précisément les morts; ce qui renverserait toutes mes déductions. Je n'ai à répondre qu'une chose, c'est que le dépôt de cette matière grasse dans une cellule ne peut résulter que d'un travail vital, et que les globules qui en contiennent étaient certainement vivants au moment où ils s'en remplissaient. Ils seraient morts depuis que cela ne changerait rien à la chose.

Concluons donc, en résumé, que la matière grasse que nous trouvons dans nos globules vieillis, se forme sur place et résulte de la nutrition du globule aux dépens des aliments médiocres non azotés qu'il a à sa disposition. La dégénérescence grasse qu'il subit dans ces conditions est la forme physiologique par laquelle se traduit chez lui son état de souffrance.

CONTRIBUTION EXPÉRIMENTALE

A L'ÉTUDE DE QUELQUES QUESTIONS PENDANTES AU SUJET DE LA RAGE,[1]

Par M. A. HŒGYES, à Budapest.

I. — LA RAGE QUI A ÉCLATÉ PEUT-ELLE GUÉRIR SPONTANÉMENT?

Les médecins anciens et modernes, tout aussi bien que le public, s'accordent à croire perdu sans rémission tout individu chez lequel la rage a éclaté après morsure d'un chien enragé, et la vaste littérature, spéciale à la rage, ne relate que quelques cas, d'authenticité douteuse, de guérison à la suite d'un traitement.

Ces cas deviennent d'autant plus douteux qu'on les examine de plus près, et qu'on se demande avec plus de précision, d'abord, si l'animal mordeur était en effet enragé, puis si la maladie qui a guéri était vraiment la rage, et non une maladie nerveuse d'apparence rabique.

On n'est pas plus avancé avec les animaux. Ils meurent d'ordinaire après quatre ou cinq jours de rage déclarée, mais chez ceux qu'on a donnés comme guéris, il reste à savoir s'ils ont été réellement infectés, ou s'ils n'ont pas eu, eux aussi, des maladies nerveuses et cérébrales présentant des symptômes pareils à ceux de la rage, s'ils ont eu la rage vraie ou une névrose passagère.

L'expérimentation peut seule résoudre ce problème, en produisant sûrement une infection rabique chez un animal, en notant exactement les phénomènes de la maladie quand elle se déclare, et mettant en rapport la cause et l'effet. La matière expérimentale accumulée dans mon Institut depuis trois ans que j'étudie les vaccinations antirabiques, me fournit assez de données pour

1. Mémoire communiqué à l'Académie Hongroise des Sciences, le 15 avril 1889.

éclairer cette question. Ce sont ces données que je vais faire connaître.

Cas I. Un chien a été inoculé le 11 octobre 1884, par M. Azary, sous la peau de la nuque, avec la moelle d'un chien mort de rage. La rage a éclaté chez lui 11 jours après l'infection, *et, pendant 10 jours on a pu en observer chez lui les symptômes bien connus.* Le 11[e] jour la santé revient et le chien vit encore. Il a résisté plusieurs fois à divers modes d'inoculation du virus rabique le plus actif. Une seule fois, après une infection d'épreuve avec du virus de passage, apparurent chez lui, le 6[e] jour, des symptômes d'excitation et d'épuisement en rapport avec la violence du virus appliqué. Mais l'animal s'est rétabli de ce *second* accès, et en a eu par conséquent deux dont il s'est guéri spontanément.

Cas II. Un petit chien, infecté le 19 janvier 1887, sous la peau de la nuque, avec un virus fixe, présenta, au bout de 18 jours, des symptômes de la rage furieuse, qui disparurent après 4 jours. Un mois après, il fut infecté sous la dure mère, avec du virus de la rage des rues. Les 25, 26 et 27[e] jour après l'infection, les symptômes de la rage furieuse se montrèrent, mais disparurent spontanément et l'animal guérit de nouveau. Plus tard, il subit une nouvelle inoculation sous la dure mère, qui ne lui fit aucun mal. Il a donc subi aussi 2 accès de rage furieuse sans en mourir.

Cas III. Un autre chien inoculé le 2 mai 1887, sous la dure mère, avec un virus de rage des rues, présenta, 16 jours après, les symptômes de la rage furieuse qui durèrent 7 jours, au bout desquels l'animal entra en convalescence. Après avoir ainsi échappé à un *accès de rage furieuse parfaitement développé*, il n'avait pas acquis l'immunité contre une seconde infection sous la dure mère avec du virus de passage, car il succomba au bout de 9 jours, après deux jours de rage furieuse.

Cas IV. A travers la peau du front et du nez d'un grand chien brun, on fait pénétrer, le 31 août 1887, du virus de passage par voie de scarification et d'injection hypodermique. Le 9[e] et le 10[e] jour après l'infection, l'animal subit une légère maladie (manque d'appétit, tristesse) dont il se rétablit. Il succomba ultérieurement à une inoculation faite avec une dilution à 1/250 de virus de passage.

Cas V. Un chien qui avait reçu, le 2 septembre 1887, une inoculation intra-crânienne de virus de passage (I, 6 — M, 8) [1], tombe malade le 6e jour après l'opération. Le 7e, la faiblesse et le manque d'appétit continuent; le 8e, il entre en convalescence. Il a donc eu, comme le précédent, un *accès de maladie légère*, à l'époque critique correspondant à la virulence du virus appliqué.

Cas VI. Un chien qui avait reçu, le 1er octobre 1887, sous la dure mère, une dilution à 1/250 de virus de passage (I,7 — M,9), devient inquiet et excité le 8e jour. *Il reste 6 jours dans cet état.* Le 7e, il se porte mieux, puis se rétablit. Au bout de six semaines il subit une nouvelle inoculation intra-crânienne avec une émulsion dense de virus de passage : cette fois il est pris de rage furieuse à l'époque régulière, et il en meurt.

Cas VII. Un chien a été infecté le 3 février 1888, sous la peau de l'oreille, avec la moelle d'un chien enragé (I,9 — M, 10) mort au laboratoire. On le vaccine ensuite pendant 9 jours avec des moelles diluées, de différents degrés de virulence. Il n'a aucun mal en février ni en mars. Le 5 avril 1888, pour éprouver son état réfractaire, on lui inocule sous la dure-mère la moelle d'un chien des rues enragé. 39 jours après, il perd l'appétit; le 40e et le 41e jour, il montre de la paralysie du train postérieur, mais il se rétablit les jours suivants. Après un mois et demi environ, il subit, sans infection nouvelle, un nouvel accès de rage qui dura quelques jours et que suivit une convalescence parfaite. Voilà donc un cas où, sans doute par suite de la vaccination, le chien a pu résister à *deux attaques de rage*.

Cas VIII. Le 18 février 1888, on inocule sous la dure-mère d'un chien, la moelle d'un chien enragé, provenant d'un passage élevé des inoculations succesives de chien à chien. Neuf jours avant l'infection, on l'avait vacciné trois jours de suite, avec une dilution de moelle de passage. Seize jours après l'inoculation intra-cranienne, l'animal présente une grande faiblesse, un état paralytique du train de derrière, et perd l'appétit, mais se rétablit et se montre ensuite réfractaire. Son léger accès de rage paralytique avait donc coïncidé avec la période critique correspondant au virus inoculé.

1. Ces signes abréviatifs signifient que le lapin qui a fourni la moelle était mort après 6 jours d'incubation, et deux jours de rage déclarée : total 8 jours jusqu'à la mort.

Cas IX. Un chien vacciné du 8 au 14 mars 1888 avec de la moelle de passage diluée, reçoit le 18 mars, sous la dure-mère, une inoculation de virus de passage, destinée à constater son état réfractaire. Dix jours après, il devient très vif. Le 11e jour, il a des convulsions à la mâchoire inférieure, qui se paralyse le 16e jour. L'animal est du reste excité et mord le bâton qu'on lui présente. *Il reste à peu près 5 jours dans cet état*, puis se rétablit. Après 7 mois, il supporte sans aucun mal l'inoculation intra-oculaire du virus de la rage des rues.

Cas X. Un chien a reçu sous la peau, le 27 juin 1888, environ $0^{gr},5$ de virus fixe (I, 6 — M, 7). Le même jour il reçut, sous la dure mère, de la moelle d'une femme morte de rage. Douze jours après, il devient inquiet, excité; cet état dure deux jours, après lesquels il perd l'appétit. Les jours suivants il s'affaiblit de plus en plus; la paralysie des extrémités survient et la marche est chancelante. Après 8 à 9 jours il se rétablit spontanément. Voilà donc encore un autre cas de *rage paralytique imparfaitement développée et finissant par la guérison.*

Cas XI. Un chien a reçu, le 27 juin 1888, une inoculation intra-crânienne de moelle d'une femme morte de rage. Dix-neuf jours après éclatent les symptômes de la rage paralytique, qui durent 5 jours, au bout desquels l'animal entre en convalescence et guérit. Quatre mois après, il supporte, sans broncher, une nouvelle infection intra-oculaire. *Sa rage paralytique de 5 jours s'était encore spontanément guérie.*

Cas XII. Un chien a été infecté, le 16 septembre 1888, par voie intra-oculaire, avec la moelle rabique d'un chien des rues. Le 17 septembre on lui injecte dans la trachée $2^{gr},5$ de moelle de passage, délayée dans 14^{cc} d'eau salée à 7 p. 1000. Le 19 septembre, nouvelle inoculation, au même point, de 1 gramme de la même moelle. Huit jours après la première infection, l'animal est extrêmement excité, mord violemment le bâton; son excitabilité réflexe augmente ensuite de telle sorte qu'il tressaille au moindre bruit. Puis tout rentre dans l'ordre, et *cet accès si net de rage furieuse aboutit encore à une guérison.*

Cas XIII. Un chien subit, le 20 octobre 1888, l'inoculation intra-oculaire du virus rabique d'un chien des rues, puis, le lendemain et le surlendemain, des vaccinations intra-trachéales faites le premier jour avec 5 grammes, le second jour avec

1 gramme de moelle de passage délayée dans l'eau salée. Le 16e jour après l'infection éclate sur lui une rage paralytique des plus accentuées, qui au bout de quatre jours s'atténue et aboutit à une guérison parfaite.

Dans les expériences que je viens d'énumérer, il y a six cas de guérison dans lesquels l'animal n'avait pas subi autre chose que l'infection rabique. Sur ces six cas, quatre étaient des cas évidents de rage; pour les autres la maladie avait éclaté à la période critique du virus inoculé, au moment où, chez les chiens témoins, éclatait la rage qui aboutissait à la mort.

Dans les 7 autres cas, les animaux avaient été en outre vaccinés avant ou après l'infection. La vaccination ne les avait pas préservés de la rage, mais elle en avait retardé l'évolution, et l'avait empêchée d'aboutir à la mort, comme cela avait lieu chez les témoins.

Ceci nous permet de répondre à la question posée en tête de cet article, qu'il peut y avoir des cas sporadiques de guérison spontanée de la rage chez les chiens. Ces cas sont rares. En trois ans et demi, je n'en ai eu que 13, sur 159 animaux inoculés de diverses façons : c'est une proportion de 8,1 0/0, dont 3,7 0/0 de chiens infectés et non vaccinés, et 4,4 0/0 de chiens infectés et vaccinés.

De ce fait il faut conclure qu'il y a des chiens qui supportent mieux la contagion rabique que d'autres, ce qui revient à dire, si l'on songe au principal siège des altérations pathologiques de la rage, que le cerveau et la moelle épinière résistent mieux à l'infection chez certains chiens que chez d'autres.

Comment expliquer ces faits? Je crois que les observations précédentes donnent le mot de l'énigme. Nous venons de voir les cas de maladie et de guérison les plus authentiques surtout sur des chiens qui avaient été vaccinés avant ou après l'infection mortelle. Il faut donc supposer que la vaccination avait produit une immunité insuffisante pour prévenir l'apparition de symptômes rabiques, mais suffisante pour les empêcher d'aboutir à la mort. Cette immunité insuffisante avait été renforcée par la maladie elle-même, si bien qu'ultérieurement beaucoup de ces animaux guéris ont pu supporter sans trouble des injections mortelles.

Dans les six premiers cas relatifs à des animaux non vaccinés, on a le droit d'admettre aussi l'intervention d'une immunité insuffisante, provenant ici soit de dispositions naturelles, comme on l'a observé si souvent dans d'autres maladies, soit de morsures antérieures ayant amené une légère vaccination préventive.

Chez l'homme, la rage, quand elle a éclaté, est toujours mortelle. Toute thérapeutique est impuissante, et la seule chose à tenter est de calmer les douleurs ou les appréhensions du malade. Mais d'où vient que chez l'homme, plus réfractaire à la rage que le chien, les cas de guérison sont si rares ou même absolument inconnus? Peut-être peut-on trouver dans l'interprétation précédente une explication de ces faits. Chez l'homme, les conditions naturelles ne se prêtent pas à l'acquisition de cette immunité insuffisante qui survient chez les chiens par les voies que nous venons d'indiquer. Le virus rabique trouve toujours au dépourvu le sol dans le système nerveux, et une fois qu'il y est implanté, il y exerce ses effets délétères.

Le seul moyen actuel de préparer le système nerveux de l'homme à l'intervention du virus rabique est la vaccination préventive, qui semble n'être pas autre chose qu'une accoutumance artificielle du système nerveux aux effets du virus. Cette accoutumance suffit dans la plupart des cas, même après la morsure d'un chien enragé, pour que le virus, à son arrivée dans les centres nerveux, les trouve réfractaires. Mais la méthode est impuissante à combattre la rage déclarée qui se trouve ainsi chez l'homme n'être guérissable ni spontanément, ni par traitement.

II. L'IMMUNITÉ ARTIFICIELLE CONTRE LA RAGE EST-ELLE HÉRÉDITAIRE?

La question du transfert de l'immunité naturelle ou artificielle contre une maladie infectieuse est encore pleine de contradictions. On a vu par exemple cette espèce d'hérédité fonctionner pour certaines maladies, certaines espèces et certains individus. Telles sont, par exemple, les immunités héréditaires pour la syphilis et la variole chez l'homme, pour l'anthrax et le charbon symptomatique chez les animaux. On a vu, d'un autre

côté, des cas où l'immunité contre l'anthrax, le rouget des porcs ou le choléra des poules n'était nullement héréditaire.

Il n'y a, à ma connaissance, aucun fait de cet ordre publié à propos de la rage. Aussi j'espère que celui-ci ne sera pas sans intérêt. Quatre petits chiens sont nés dans mon laboratoire d'un couple de chiens réfractaires tous deux, et dont l'immunité, souvent éprouvée, était absolue. A l'âge de trois mois, ces quatre petits chiens ont été infectés, par voie intra-oculaire, avec le virus rabique d'un chien des rues. L'un devint enragé le 13e jour et périt le 17e jour après l'infection. Chez le second, la rage éclata le 28e jour et l'emporta en 24 heures. Chez le troisième, la période d'incubation fut de 42 jours, et il mourut le lendemain. Tous trois sont morts de rage authentique, ainsi que l'a prouvé l'inoculation de leurs moelles à des lapins qui sont morts. Le quatrième chien a été malade en même temps que le troisième, mais il a survécu à l'accès de rage, et s'est montré absolument réfractaire contre une seconde infection intra-oculaire, faite quelques mois après la première. Il vit encore et se porte bien.

Après ces observations sur cette portée de jeunes chiens, j'ai soumis les parents à une nouvelle épreuve d'immunité, au moyen d'une infection intra-oculaire de virus de la rage des rues, et j'ai trouvé leur immunité absolue. On pouvait donc dire avec assurance que ce couple était absolument réfractaire au moment de la conception. De leurs quatre jumeaux, un seul a résisté, il est vrai, à l'infection d'épreuve, mais deux autres avaient un commencement d'immunité, puisque chez eux la période d'incubation du virus a été notablement plus longue que la période normale. Un seul enfin s'est montré sans résistance contre le virus.

On peut tirer de ces observations, comme loi empirique, que la *transmission héréditaire, partielle ou entière, de l'immunité contre la rage est possible, mais qu'elle ne se fait pas toujours.*

C'est en vain qu'on chercherait, dans l'état actuel de la science, une explication de ce fait. Il faut se contenter de l'enregistrer. Il est déjà surprenant de voir des observateurs arriver à des conclusions contradictoires dans leurs études sur la transmission héréditaire de diverses maladies à divers animaux; il ne l'est pas moins de voir, dans l'exemple que je viens de citer, des descendants de parents réfractaires hériter si inégalement de l'immunité

des parents, que l'un en a une égale à la leur, deux autres une plus faible et l'autre plus du tout. Quels changements singuliers dans l'état physiologique soit du père, soit de la mère pendant la conception, peuvent avoir amené ce résultat?

Sous ce point de vue, et à cause de ces caractères particuliers, la transmission héréditaire de l'immunité rabique sera du reste curieuse à étudier. J'ai dans mon laboratoire des petits chiens issus d'une mère réfractaire et d'un père non réfractaire, d'autres dont le père était réfractaire et dont la mère ne l'était pas. Il sera intéressant d'étudier l'effet produit sur eux par le virus rabique, et de chercher s'ils y résistent mieux ou moins bien que leurs ascendants. C'est un problème dont j'essayerai de trouver la solution.

III. QUELLE EST LA DURÉE DE L'IMMUNITÉ CONFÉRÉE CONTRE LA RAGE?

On sait qu'on peut communiquer artificiellement l'immunité contre le virus rabique, et j'ai en ce moment, dans mon Institut, 27 chiens absolument réfractaires non seulement contre une simple morsure de chien enragé, mais contre des inoculations intra-crâniennes ou intra-oculaires plusieurs fois répétées.

On n'a encore qu'un petit nombre de données au sujet de la durée de cette immunité. M. Pasteur a mentionné un cas où elle avait duré deux ans. J'ai, dans mon laboratoire, un chien vacciné en 1884 par M. Azary et, depuis, soumis plusieurs fois à l'épreuve de l'immunité. La dernière de ces épreuves a été faite il y environ 3 mois. L'avant-dernière datait alors de 13 mois, c'est la plus longue période que je puisse citer. Cet animal, dont l'immunité a été si souvent mise à l'épreuve est réfractaire depuis 5 ans environ.

Parmi mes 27 chiens réfractaires, il y en a pour lesquels l'intervalle des deux épreuves a été de 4, 6, et 8 mois, et toujours l'animal qui s'est montré réfractaire contre une infection mortelle a conservé cette immunité après des épreuves réitérées, pourvu que le virus de ces épreuves ne fût pas plus fort que le virus primitif. Il y a pourtant des cas isolés où l'animal a résisté alors que cette condition n'était pas remplie.

A partir de la dernière épreuve de l'immunité faite sur ces

27 chiens, il s'est écoulé, jusqu'au 15 août 1889, pour trois, 35 semaines; pour deux, 36; pour un, 43; pour deux, 48; pour quatre, 52; pour trois, 58; pour un, 59; pour quatre, 65; pour un, 66; pour deux, 69; et enfin pour le dernier, 95 semaines sans que les animaux aient pris aucun mal. Leur immunité est donc absolue. J'ai l'intention de les soumettre, à de longs intervalles, à de nouvelles épreuves d'immunité.

IV. SUR LA STATISTIQUE DE LA RAGE EN HONGRIE DU 1er NOVEMBRE 1885 A LA FIN DE JUIN 1888.

Dans cette période il y a eu en Hongrie 532 déclarations officielles de morsures d'animaux suspects de rage. Parmi les mordus, 49 ont été traités chez M. Pasteur; 13 à Vienne, chez M. Ulmann, soit en tout 62. Un seul d'entre eux est mort, non de rage, mais de phtisie, un an après le traitement antipastorien. Sur les 470 non traités, 44 sont morts de la rage, c'est une proportion de 9,3 0/0. La statistique des mordus hongrois témoigne donc de l'efficacité du traitement antirabique pastorien.

Je ne fais pas figurer dans cette statistique deux personnes mordues avant le 1er novembre 1885 et comprises dans les 51 Hongrois traités par M. Pasteur.

SUR LES PROPRIÉTÉS ANTISEPTIQUES DE L'HYDROXYLAMINE,

Par M. G. HEINISCH.

Dans les traités d'hygiène on ne trouve pas encore citée l'hydroxylamine parmi les antiseptiques, car, bien qu'on ait déjà constaté son action toxique sur quelques êtres inférieurs, algues et infusoires (Lœw, *Berichte*, 1885, Réf.), on n'a jamais étudié méthodiquement son influence sur les microbes.

J'ai reconnu que ce corps est doué, vis-à-vis des infiniment petits, de propriétés analogues à celles des antiseptiques usuels, et je me suis proposé de déterminer quelles sont les doses qui peuvent empêcher le développement d'une culture. J'ai comparé ces doses aux quantités de sublimé et d'acide phénique nécessaires pour produire le même effet. Mes expériences ont porté sur trois microbes, la bactéridie charbonneuse, le microbe de la diphtérie et le *tyrothrix tenuis* ; j'ai choisi ce dernier parce que, comme l'a établi M. Duclaux, c'est l'un de ceux qui résistent le mieux à l'action de la chaleur, et qu'il m'a semblé intéressant de voir s'il manifesterait une résistance analogue vis-à-vis des antiseptiques.

Ces microbes étaient cultivés dans du bouillon de veau aussi exactement neutre que possible. J'ai eu soin d'examiner l'action des antiseptiques sur des cultures faites toujours dans un même volume de bouillon (10^{cc}) et âgées de 24 heures. J'ai aussi opéré constamment à la même température (32°). L'hydroxylamine était employé à l'état de chlorhydrate : on avait soin de mettre la base en liberté par l'addition de la quantité voulue de soude.

Voici quelles sont les doses, exprimées en milligrammes, pour un litre de bouillon, c'est-à-dire évaluées en millionièmes qui empêchent le développpment de ces trois microbes :

	Sublimé.	Phénol.	Hydroxylamine exprimée en chlorhydrate.
Charbon	4	2000	77
Diphtérie.	6	1500	75
Tyrothrix tenuis. . .	50	2000	300

On voit que l'hydroxylamine a une activité intermédiaire entre celle du phénol et celle du sublimé ; de plus le *tyrothrix tenuis* est, relativement à cet antiseptique et au sublimé, beaucoup plus résistant que les deux autres microbes.

Les doses d'antiseptique qui empêchent un microbe de se développer dans du bouillon sont, on le sait, de beaucoup inférieures à celles qui sont nécessaires pour tuer une culture en pleine activité, c'est-à-dire pour empêcher une petite quantité de semence, prise dans la culture additionnée d'antiseptique, de peupler un bouillon nouveau. J'ai essayé de voir quelle était la dose d'hydroxylamine capable d'amener ce résultat. Je n'ai réussi qu'avec le microbe du charbon. Après 4 heures de contact en présence de la dose 4118 de chlorhydrate d'hydroxylamine, la bactéridie était encore vivante : elle était morte après 7 heures. Mais le bacille de la diphtérie est beaucoup plus résistant, bien qu'il se soit comporté à l'égal de la bactéridie dans les expériences précédentes. La dose 5454 était encore incapable de le tuer après un contact de 7 heures. Il en a été de même pour le *tyrothrix tenuis*. Comme cette dose dépasse 5 grammes par litre, je n'ai pas poussé cette expérience plus loin.

Paris, *Institut Pasteur*, le 1er août 1889.

REVUES ET ANALYSES

C. Fraenkel et R. Pfeiffer. La représentation photographique des préparations de bactéries. *Berlin* 1889, avec un atlas de photographies microscopiques.

Le problème de la reproduction exacte et précise d'une image microscopique n'est pas encore résolu. On est obligé de choisir entre un dessin et une reproduction photographique, qui, l'un et l'autre, ont des avantages et des inconvénients. Le dessinateur met souvent du sien, sous prétexte d'art, dans ce qu'il dessine. L'expérience montre, en outre, que quand il a devant lui une foule d'images de même forme, comme par exemple dans une préparation de bactéries, il a une tendance à dessiner surtout les formes anormales, les exceptions, ou au moins à en exagérer le nombre par rapport aux formes normales, qui ne le frappent pas, parce qu'il y en a trop. Mais quand l'artiste est à la fois exercé et surveillé, il peut donner de certaines préparations, par exemple des coupes de tissus, des images plus correctes et plus expressives qu'aucun mode de reproduction photographique, parce qu'on y sent mieux les rapports des éléments les uns avec les autres, parce que le dessin, plus différencié, en précise mieux les contours, et peut faire sentir, par ses artifices ordinaires, cette impression des *dessous* que la photographie disloque. Le danger est que le dessin, toujours conventionnel par nature, ne devienne schématique, ou même ne laisse place à des interprétations qui n'ont été vues qu'avec l'œil de la foi, mais que le crayon n'en a pas moins traduites comme des réalités.

En fournissant des images microscopiques plus nettes et plus facilement lisibles, l'introduction des préparations microscopiques colorées a permis de perfectionner le dessin et ses divers modes de reproduction typographique. Mais là encore on est loin du but qu'il faudrait pouvoir atteindre. Les images coloriées dont sont remplis tous les journaux médicaux valent moins, quoi qu'en pensent le public et surtout les auteurs, que les images noires et plus soignées qu'elles ont remplacées. La coloration dissimule la structure, et il est bien plus facile pour un dessinateur de tracer un trait rouge ou bleu que de faire sentir dans un dessin le facies particulier du bâtonnet que le trait remplace. De plus, ces dessins n'ont aucune solidité. La lumière les altère, y efface les couleurs sensibles, et il est telle planche très nette aujourd'hui qui sera illisible dans quelques années, pour peu que le livre qui la contient reste exposé sur les tables du laboratoire. La coloration des coupes est faite uniquement pour servir d'instruction au savant et de guide au dessinateur. Il est imprudent de la traduire en chromolithographie, à

moins qu'on ne se borne à l'emploi des couleurs stables; mais il faut alors renoncer à reproduire exactement le modèle, la convention revient avec tous ses défauts, et en somme une reproduction soigneuse en noir sera toujours préférable à toute autre chose.

La photographie supprime toute intervention du dessinateur, et par conséquent est quelquefois très supérieure au dessin comme moyen de contrôle; elle donne bien la physionomie d'une préparation de bactéries, d'une colonie sur gélatine. A de faibles grossissements, on peut aussi compter sur elle pour reproduire exactement une coupe fine et bien différenciée, par exemple celle d'une tige végétale. Mais elle fléchit devant une coupe de tissu faite aux grossissements qui permettent d'y distinguer les bactéries, et, même des images dont l'œil se satisfait, parce que instinctivement il rétablit les contours et sonde les profondeurs, ne fournissent plus qu'une photographie plate et diffuse.

La photographie n'échappe d'ailleurs pas plus que le dessin aux difficultés de la reproduction typographique. Le tirage sur papier sensible fournit le calque le plus exact du cliché obtenu, mais c'est un procédé cher, presque impraticable pour les grands tirages, et les images s'effacent au bout de quelques années, à moins de précautions spéciales.

La photoglyptie échappait à ces deux inconvénients. Malheureusement on y a renoncé presque partout pour la remplacer par des procédés divers de photogravure qui donnent une planche métallique au lieu de la plaque de gélatine bichromatée sur laquelle se faisait le tirage en photoglyptie. Il se peut que la photogravure soit supérieure pour la reproduction des dessins et gravures, mais comme elle obtient les ombres au moyen d'un grain plus ou moins serré, elle ne se prête pas à la reproduction des microbes, dont les contours, endentés en dents de scie par le grain de la planche, perdent toute netteté et deviennent *flous* et indistincts. Restent les procédés de photo-lithographie. Mais là encore on manque d'expérience. Il faudrait varier le procédé suivant la nature de la photographie à reproduire. L'atlas de photographies microscopiques que viennent de publier MM. Frænkel et Pfeiffer montre qu'avec du soin on peut obtenir le plus souvent de très beaux résultats, mais qu'ils ne sont pas assurés, et aussi que, dans un même tirage, toutes les épreuves ne se ressemblent pas. Ce sont des difficultés contre lesquelles nous avons eu aussi à lutter dans les *Annales*, où nous avons poussé des pointes dans des sens très divers, sans avoir toujours parfaitement réussi, sauf dans la reproduction en photoglyptie, qui nous a donné de très belles images. Nous sommes donc très bien placés pour excuser les quelques défauts de l'atlas, et rendre hommage à ses nombreuses qualités.

Cet atlas est précédé d'une préface dans laquelle MM. Frænkel et Pfeiffer décrivent leurs appareils et leurs méthodes. Ce travail, qui se résume en une série de préceptes détaillés sur les diverses parties de l'opération, n'est pas susceptible d'analyse. Aussi bien y retrouve-t-on la plupart des pratiques auxquelles se sont trouvés conduits presque tous ceux qui se sont occupés de photographie microscopique, et qu'on lit dans tous les traités sur la matière. Mais parmi celles auxquelles MM. Frænkel et Pfeiffer ajoutent de l'importance, il y en a une qui leur est particulière, et qui mérite de nous arrêter quelques instants.

On sait que lorsqu'on observe au microscope avec un fort grossissement une coupe de tissu incolore ou à peine coloré, il est bon de diminuer par un diaphragme à la fois la quantité et l'angle d'ouverture de la lumière incidente. On aperçoit ainsi des détails de structure qui seraient restés noyés dans l'éclat trop grand du fond, si on avait laissé arriver toute la lumière fournie par l'appareil à éclairage, surtout avec le condenseur d'Abbe. On a ainsi ce que M. Koch a appelé *l'image de structure*.

Quand il s'agit d'examiner au contraire des bactéries fortement colorées dans l'intérieur d'un tissu resté incolore ou faiblement coloré, on fait arriver le plus de lumière possible. Il y a souvent une petite variation de *point*, correspondant à l'angle d'ouverture plus grand du faisceau lumineux incident, mais on a alors une image très nette de bactéries colorées se détachant vigoureusement sur un fond à peu près uniforme. On a l'*image de coloration* de M. Koch.

Depuis le remarquable travail de ce savant sur ce sujet, on distingue et on sépare ces deux images. La première est attribuée à des différences de réfraction dans les diverses parties de la coupe. La seconde est donnée comme une image d'absorption. J'avoue n'avoir jamais rien compris de tout ce qui a été écrit sur cette distinction. Il me paraît que le mécanisme de la formation des images est partout le même, et que, lorsque le diaphragme est largement ouvert, l'œil reçoit à la fois, et exactement au même point, l'image de structure et l'image de coloration. S'il les *voit* inégalement, c'est pour des raisons en partie physiologiques, et indépendantes par conséquent de la marche du rayon qui est partout la même. Les portions plus ou moins transparentes qui forment la trame du tissu, et constituent le fond du tableau, soutendent en général pour l'œil un angle assez considérable. Dès lors, en vertu d'un théorème d'optique, leur éclat intrinsèque, et par conséquent leur éclat relatif, les unes par rapport aux autres, n'est ni augmenté ni diminué par le passage au travers du système optique du microscope, et, en vertu d'une loi physiologique, les minces détails sont noyés par un phénomène d'irradiation analogue à celui qui rend

pénible ou impossible la lecture en plein soleil. Dans cette lumière vive, au contraire, les bactéries fortement colorées et tout à fait opaques, qui soutendent pour l'œil un angle très faible, prennent, en vertu du même théorème d'optique, un éclat relatif, ou plutôt une obscurité relative proportionnelle au grossissement ; c'est le phénomène inverse de celui qui permet d'apercevoir au ciel les étoiles en plein midi, à la condition de les observer au travers d'une lunette suffisamment puissante, qui multiplie leur éclat par rapport à celui du fond, et les rend apparentes. Les mêmes causes amènent au microscope le même contraste entre les microbes colorés et le fond : mais en somme, il n'y a qu'une seule image, et la distinction établie par M. Koch me semble sans aucune raison d'être.

Ce qui me confirme dans cette manière de voir, c'est que la plaque photographique, qui ne se fatigue pas comme l'œil, ne distingue pas entre ces deux images, qu'elle donne des détails très fins de structure, en même temps que des effets de coloration, quand on opère à diaphragme ouvert, et que MM. Fraenkel et Pfeiffer, qui continuent évidemment à séparer ces deux images dans leurs observations au laboratoire, les confondent dans l'atelier de photographie, l'expérience leur ayant appris à tenir leur condenseur à peu près complètement ouvert, ou même tout à fait ouvert, pour les préparations non colorées comme pour les préparations colorées.

Il rapportent même le phénomène à sa véritable cause quand ils ajoutent : « On voit par les photogrammes ci-joints qu'en augmentant l'ouverture du cône d'éclairement, si la précision des contours diminue, les autres détails gagnent en nombre et en netteté. S'il n'en est pas de même à l'observation oculaire, c'est que nous avons l'habitude de travailler à la lumière diffuse ; c'est aussi que notre œil est moins sensible que la plaque photographique à ces différences à la fois fines et importantes. L'éclairement intensif des préparations, qui seul peut faire apparaître certaines particularités de structure, est insupportable à notre rétine. La plaque sensible ne doit subir qu'une très courte exposition à cette lumière vive, mais cela lui suffit pour recevoir une impression puissante et nette, tandis que l'œil resterait à peu près impuissant. » On retrouve là, en gros, les idées que nous exposions tout à l'heure.

Pour pouvoir régler plus facilement le temps d'exposition de la plaque sensible, MM. Fraenkel et Pfeiffer ont été conduits, comme beaucoup d'autres photographes, à augmenter sa durée minimum en interposant sur le trajet des rayons lumineux une cuve remplie d'un liquide coloré et absorbant. Il semble qu'on perde ainsi volontairement un peu du bénéfice de l'ouverture du diaphragme, puisqu'après

avoir laissé rentrer plus de lumière, on en diminue l'intensité au moyen de l'écran coloré. Ce serait une contradition choquante. Mais là, encore, il ne faut pas se hâter de conclure.

On a dit que l'emploi de cet écran coloré, qu'on tâche de prendre quelquefois monochromatique, a pour but de mieux définir le foyer chimique de l'objectif, et par conséquent de fournir une image photographique plus nette. Mais l'expérience apprend qu'avec les forts grossissements, surtout avec les objectifs apochromatiques, ce foyer chimique coïncide assez exactement avec le foyer lumineux pour que l'image photographique soit toujours nette lorsque la surface sensible vient remplacer exactement le plan dépoli sur lequel on a mis l'image au point. Il faut donc chercher ailleurs. D'un autre côté, il n'est pas raisonnable de penser que l'écran coloré a pour unique objet de combattre un excès d'ouverture du diaphragme. Ce n'est donc pas la quantité de lumière qui entre en jeu, c'est sa qualité.

Conformément à l'explication que nous donnions tout à l'heure, une bactérie colorée *viendra* d'autant mieux en photographie qu'elle sera plus noire par rapport au fond, de même, pour revenir à la comparaison qui nous servait tout à l'heure, qu'une étoile sera d'autant plus visible en plein jour pour un instrument donné qu'elle sera plus brillante, c'est-à-dire plus différenciée avec le fond commun. Or, toutes les substances colorantes laissent passer une certaine quantité de lumière, qui peut par exemple être très photogénique, et, alors, la différenciation étant moins nette pour la plaque photographique que pour l'œil, l'image perdra en netteté. Si, au contraire, on illumine la préparation précisément avec les seuls rayons qu'absorbe notablement la couleur qui la teinte, on aura chance d'en obtenir une excellente image.

Voilà ce que dit la théorie : or, telle est précisément la conclusion pratique à laquelle arrivent MM. Frænkel et Pfeiffer, à la suite d'une étude très bien faite sur le pouvoir absorbant des diverses couleurs employées dans la technique microscopique. Ils recommandent, par exemple, d'éclairer avec un filtre vert, et de recevoir sur une plaque orthochromatique, les images des préparations colorées avec du violet de méthyle ou de gentiane, de la fuchsine, ou du bleu de méthylène; d'éclairer au contraire les préparations au brun de Bismarck avec de la lumière bleue, telle que celle de la solution ammoniacale de cuivre, etc. On pourrait pousser plus loin l'étude de ce travail; ce que nous venons de dire suffit à faire comprendre l'intérêt qu'il peut avoir pour les savants, de plus en plus nombreux, qui s'occupent de photographie microscopique. Dx.

L. Heydenreich. — Le Clou de Pendeh (Clou tropique), symptômes, diagnose, prognose, causes et traitement, 1 *vol. et atlas, Saint-Pétersbourg*, 1888.

Le clou de Pendeh sévit endémiquement dans les provinces russes de l'Asie centrale, et surtout dans quelques localités aux bords du fleuve Mourghab. Il est surtout fréquent dans les mois d'été, juillet, août et septembre. D'après les observations de l'auteur, ce clou ne se distingue en rien du clou de Biskra, du Nil, de Bagdad, d'Alep, etc.

Il débute par une petite papule rose, peu saillante sur la peau, qui bientôt, le plus souvent en quelques jours, grandit, se couvre de lamelles écailleuses formant une escarre dont la chute laisse un ulcère de diverses dimensions. Le plus souvent, sa surface ne dépasse pas 1 à 2 cq. Ses bords sont taillés à pic. Le fond inégal, déchiré, sécrète d'abord un pus épais, d'un jaune sale, puis se nettoie, et finit par donner une sérosité plus ou moins claire. Il laisse enfin une cicatrice plus ou moins ovalaire qui ne déforme presque jamais les parties atteintes, et qui prend quelquefois une teinte jaune ou brunâtre, suivant le lieu qu'elle occupe. L'évolution complète du clou dure environ 1 à 2 mois. La sensibilité est d'ordinaire minime.

Mais tous les clous n'évoluent pas de la même façon. Il y a des amas de papules qui disparaissent sans jamais donner d'ulcères, des ulcères qui ne perdent pas leur escarre ou affectent la forme d'une excroissance papillomateuse ou fongueuse, etc. De même, il y a des combinaisons ou des atténuations de formes. Les clous s'accompagnent parfois de lymphangites; dans plus de la moitié des cas, on trouve des ganglions durs, dont la grosseur varie de celle d'un pois à celle d'une noix, et qui sont caractéristiques de cette sorte d'ulcères. Ces ganglions sous-cutanés se trouvent placés sur le trajet des vaisseaux lymphatiques au-dessus des clous, et pourraient être confondus avec des ganglions lymphatiques tuméfiés, mais ces derniers n'augmentent qu'exceptionnellement de volume.

La durée du clou est aussi très variable. On en voit qui disparaissent en 8 ou 15 jours, et d'autres qui durent 4 à 5 mois, ou même davantage. Leur nombre sur un même individu peut aussi varier beaucoup. Sur 1,285 malades observés à ce point de vue, M. Heydenreich a trouvé 790 portant de 1 à 10 clous; 231 en ayant de 10 à 20; 113, de 20 à 30; 106, de 30 à 40; 20, de 60 à 70; 14 en portant de 70 à 100; et 5, de 100 à 174.

La répartition des clous sur le corps est aussi curieuse à étudier. En général, ils éclatent sur les parties non couvertes, et de préférence, sur celles qui sont le plus exposées au frottement, soit des mains, soit

des vêtements. La seule exception est pour les faces palmaires des mains et des pieds, qui ne portent presque jamais de clous, sans doute à cause de l'épaisseur de la peau. Sur 16,036 clous observés, la tête en portait 1,180, le tronc 3,942, les membres supérieurs 5,018, les membres inférieurs 5,896.

Une division plus détaillée constatait la distribution suivante :

Tête. — Front, 288 clous; pourtour des yeux, 58; nez, 64; joues, 396; pourtour de la bouche, 48; menton, 106; bords du maxillaire inférieur, 69; oreilles, 151.

Tronc. — Cou, 859 clous; poitrine, 348; dos, 269; ventre, 795; reins, 1,577; pénis, 94.

Membres supérieurs. — Bras, 327 clous; avant-bras. 3,745; mains, 793; doigts, 153.

Membres inférieurs. — Fesses et région sacrée, 293 clous; cuisses, 198; jambe, 4,255; pieds, 1,033; doigts, 117.

La prédominance des clous aux membres inférieurs s'explique surtout par la chaussure spéciale du soldat russe, faite de bottes imperméables et montant jusqu'aux genoux, qui se remplissent de poussière. Des chiffres encore plus détaillés montrent que les extrémités sont surtout affectées aux jointures, là où il y a le plus de frottement; le ventre à l'endroit de la ceinture, les oreilles sur leurs bords saillants, etc.

Le diagnostic du clou de Pendeh est surtout fondé sur la présence des ganglions, l'absence de sensibilité, la répartition caractéristique des ulcères, et enfin la provenance des malades de certaines régions notoirement soumises à cette endémie.

Le pronostic est toujours bénin. Il n'y a pas encore eu de cas de mort.

Quant à l'étiologie, l'auteur a trouvé, dans les tissus et les ganglions, un diplococcus colorable avec les couleurs d'aniline, et parfois muni d'une capsule qui ne se colore pas. Quand il se multiplie, il prend quelquefois la forme de sarcine. On y trouve aussi des formes d'involution en amas glaireux. Il est facultativement aérobie, liquéfie la gélatine, et paraît s'atténuer avec le temps. Inoculé au chien, à la brebis, au lapin, et à l'homme, il a donné des affections analogues au clou de Pendeh.

L'étude microscopique a montré que l'affection était due, dans le tissu cutané comme dans les ganglions, à un procès analogue aux granulomes avec tendance destructive. On retrouve dans les tissus morbides le micrococcus et ses produits d'involution, en amas glaireux teintés en jaune par le pigment du sang. Ce pigment se présente quelquefois en petits groupes de cristaux rougeâtres.

D'autres recherches semblent montrer que l'agent infectieux se trouve principalement dans l'air et dans l'eau. Le pénétration se fait surtout par l'action de la poussière sur les parties les plus exposées au frottement. Aussi l'auteur recommande-t-il comme mesure prophylactique de ne pas envoyer les hommes dans les contrées contaminées, de les y laisser au moins peu de temps et de les répartir dans les régions les plus élevées du fleuve, couvertes de rochers ou de verdure. Il faut aussi faire attention à la situation du camp par rapport aux vents et à la poussière, et surveiller les vêtements, la chaussure, et le lavage régulier du linge des hommes.

Le traitement se borne à éviter l'irritation de la plaie, en la couvrant d'un pansement antiseptique. Dans les cas urgents, on peut employer la cautérisation au fer chaud; comme prophylaxie, on peut essayer des lavages avec une solution renfermant par litre un gramme de sublimé et deux grammes d'acide chlorhydrique. On peut encore enduire la peau avec du saindoux additionné de 1 à 2 0/0 d'acide phénique. Mais le meilleur traitement est encore l'évacuation des malades dans des contrées où l'endémie ne sévit pas.

Dx.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de la rage.

Gilbert (Prosper), 11 ans, de Bruxelles. Mordu le 18 juin à la face dorsale du poignet droit, par un chien reconnu enragé, par M. Mans, vétérinaire. Le chien a mordu deux autres personnes et des chiens. Gilbert porte au poignet droit deux blessures qui ont donné un peu de sang, une de ces morsures est pénétrante. Elles ont été lavées avec de l'eau-de-vie aussitôt après qu'elles ont été faites.

Gilbert a été traité du 24 juin au 9 juillet. Il a été pris de la rage le 29 juillet. Cet enfant était très nerveux et souffrait de fièvres intermittentes.

Sottiaux (Jean-Baptiste), 54 ans, de Bougival, Seine-et-Oise. — Mordu le 5 juillet par un chien reconnu enragé, par M. Bard, vétérinaire. Le bulbe de ce chien, inoculé à des cobayes, leur a donné la rage. Sottiaux porte une blessure à la face palmaire de la main droite, deux blessures à la partie moyenne de la face antérieure de l'avant-bras ; une morsure longue de 7 centimètres près du coude, à la face postérieure de l'avant-bras ; une autre morsure plus légère au coude, et enfin une morsure dans la pulpe du pouce gauche.

Ces blessures ont beaucoup saigné, plusieurs sont profondes, elles ont été cautérisées à l'alcali une heure après qu'elles ont été faites.

Sottiaux a été traité du 5 au 26 juillet. — Il est pris de rage le 10 août.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE [1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — JUILLET 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure { simples	»	»	»	»	4	7	»	2	2
{ multiples	»	»		»	3		»	»	
Cautérisations efficaces	»	»	»	1	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	2	»	»	1	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	4	»	»	1	»	»
Morsures aux mains { simples	»	8	16	»	36	70	»	8	20
{ multiples	»	8		»	34		»	12	
Cautérisations efficaces	3	»	»	1	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	4	»	»	38	»	»	9	»	»
Pas de cautérisation	9	»	»	31	»	»	11	»	»
Morsures aux membres et au tronc { simples	»	2	3	»	19	32	»	3	16
{ multiples	»	1		»	13		»	13	
Cautérisations efficaces	1	»	»	3	»	»	2	»	»
— *inefficaces*	2	»	»	17	»	»	9	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	12	»	»	5	»	»
Habits déchirés	3	»	»	32	»	»	16	»	»
Morsures à nu	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	»	»	»	2	2	»	»	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	1	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	1	»	»	»	»	»
Habits déchirés	»	»	»	2	»	»	»	»	»
Morsures à nu	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Totaux. { Français et Algériens	..	18	19	..	85	111	..	31	38
{ Etrangers	..	1		..	26		..	7	
	A			B			C		
TOTAL GÉNÉRAL	168								

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 159 fois ; chats, 12 fois ; cheval, 1 fois ; chacal, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. SEPTEMBRE 1889. N° 9

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

VACCINATIONS CONTRE LA RAGE

AVANT ET APRÈS INFECTION

Par M. A. HŒGYES, de Budapest.

J'ai déjà dit dans ces *Annales* (t. II, p. 133) comment j'étais arrivé, vers la fin de juillet 1886, à préparer un virus rabique fixe, identique à celui du laboratoire de M. Pasteur. Dès le mois d'août de la même année, je me suis mis à essayer la valeur prophylactique des inoculations faites avec les moelles desséchées des lapins tués par mon virus; mais je n'ai guère obtenu, dans cette voie, que des résultats négatifs, tant avec mon virus qu'avec celui de M. Pasteur. J'ai alors cherché un autre procédé pour arriver à la vaccination, et en octobre 1887, je pouvais présenter à l'Académie Hongroise des Sciences quatre chiens rendus réfractaires par la méthode nouvelle. Le 15 octobre 1888, j'ai fait devant cette Académie un exposé général de mes travaux, dans le courant desquels j'ai dû sacrifier plus de 1,500 lapins et plusieurs centaines de chiens. Ils portent sur un nombre d'animaux assez grand pour que j'aie confiance dans leurs conclusions, que je voudrais résumer ici. Quelques-unes sont en désaccord, d'autres en accord avec les résultats connus jusqu'ici; j'estime que les unes comme les autres ont le droit de voir le jour. La question de la rage est si difficile qu'il ne saurait

être indifférent de voir confirmer une fois de plus les faits fondamentaux de son étude.

Je serai pourtant bref sur les tentatives stériles que j'ai faites pour vacciner des animaux avec des moelles desséchées de lapins rabiques. Elles ont en partie précédé, en partie suivi les essais analogues de M. von Frisch[1], essais qui ont eu le même résultat négatif que les miens. Comme lui, j'ai essayé l'effet de la vaccination pratiquée avant l'infection avec le virus de la rage des rues ou le virus fixe. J'ai essayé aussi l'effet de cette vaccination pratiquée sur un animal antérieurement infecté avec le virus mortel. Sans entrer dans le détail des expériences, voici les résultats de leur groupement sous un certain nombre de chefs principaux.

I. — VACCINATIONS FAITES AVANT L'INFECTION, AVEC DES MOELLES DESSÉCHÉES.

L'inoculation se faisait en délayant, dans une solution de sel marin à 7 grammes par litre, la moelle contenant le virus fixe. On essayait l'immunité par l'inoculation intracranienne du virus de la rage des rues ou du virus fixe.

a. — Vaccination en 10 jours, avec les moelles desséchées de 10 jours à 1 jour (traitement simple de Pasteur); infection intra-

1. Les recherches de M. von Frisch (*Le traitement de la rage*, par M. le prof. Dr A. von Frisch, Vienne, 1887) ont été les suivantes :

1° Trois chiens ont reçu en 11 jours la série des moelles desséchées de 15 jours à un jour, injectées en émulsions dont on employait à chaque fois 1 centimètre cube. Ces chiens, soumis à l'épreuve de l'immunité par inoculation intracranienne du virus de la rage des rues, le premier 19 jours, le deuxième 34, et le troisième 51 jours après la fin des vaccinations, ont tous trois succombé à la rage en 8 à 12 jours.

2° Même résultat avec un autre chien qui avait reçu, pendant 15 jours, et 2 fois par jour, des injections sous-cutanées, faites avec la série des moelles desséchées de 15 jours à 1 jour, et qui, un mois après la fin des vaccinations, avait reçu sous la peau du virus de la rage des rues.

3° Deux autres chiens inoculés de même, tous les 2 jours, avec la série des moelles desséchées, ont reçu, un mois après la fin des vaccinations, une injection sous-cutanée du virus des rues. L'un est mort de la rage ; l'autre a résisté.

4° Des essais pareils avec des lapins ont eu les mêmes résultats négatifs.

5° Les injections de moelle desséchée ne sont pas inoffensives, car sur quatre chiens inoculés toutes les deux heures avec la série des moelles, un est mort, et sur trois chiens inoculés par la méthode intensive de M. Pasteur, trois sont morts.

cranienne ultérieure avec le virus de passage le plus fort. — Sur 8 lapins et 2 chiens essayés après des périodes variables, à partir de la fin des vaccinations, aucun n'a résisté.

b. — Vaccination par le traitement intensif de Pasteur; infection intracranienne avec le virus de la rage des rues. — Les six chiens traités par cette méthode sont morts de 11 à 33 jours après l'inoculation sous la dure-mère. Quatre chiens de contrôle, non traités, sont morts au bout de 8 à 11 jours.

Le seul résultat général de ces essais est que la vaccination prolonge la durée de l'incubation, mais ne confère pas l'immunité.

II. — VACCINATIONS FAITES APRÈS L'INFECTION, AVEC DES MOELLES DESSÉCHÉES.

L'infection se faisait par inoculation intracranienne ou sous-cutanée, chez des chiens et des lapins, du virus de la rage des rues. On soumettait ensuite ces animaux, après des intervalles variables, au traitement simple ou au traitement intensif de Pasteur, fait avec des moelles desséchées.

a. — Infection intracranienne avec le virus de la rage des rues, ou le virus faible de passage. — Sur 16 lapins et 8 chiens, ultérieurement vaccinés, un lapin a seul échappé à la rage.

b. — Infection sous-cutanée avec le virus de la rage des rues.

Deux chiens infectés ainsi et ultérieurement vaccinés ont résisté à la rage; mais deux autres chiens infectés en même temps et non vaccinés y ont résisté aussi. De plus, aucun de ces quatre chiens n'a résisté à l'inoculation intracranienne du virus de la rage des rues.

L'insuccès de ces vaccinations, après infection, a été le même dans les expériences de M. von Frisch[1]. Ce sont des résultats

1. Voici le résumé de celles qui se rapportent à cette face de la question :

1° On a inoculé du virus de la rage des rues sous la dure-mère de 5 chiens, dont 3 ont été ensuite soumis à la vaccination avec des moelles de 15 à 1 jour. Les 2 chiens non vaccinés sont morts après 16 à 17 jours. Sur les 3 vaccinés, 2 sont morts, un a survécu 106 jours, mais il a succombé à une nouvelle inoculation intracranienne.

2° Sur 6 chiens trépanés et infectés avec le virus de la rage des rues, 4 ont été soumis, après des intervalles variables, au traitement intensif de Pasteur. Ils

opposés à ceux qu'a obtenus M. Pasteur. Quelle peut être la raison de ces contradictions? On ne peut la chercher dans la nature des virus contenus dans les moelles. Celui dont je me sers est identique, je l'ai fait voir, à celui de Paris. De plus, en employant le virus de Paris, on a aussi, comme l'ont montré les recherches de M. Babes, faites dans mon laboratoire, des résultats négatifs. On ne peut pas incriminer non plus le mode de dessiccation, qui est tellement simple, que quelques mots suffisent pour le décrire. La seule raison acceptable est que les lapins français sont plus gros que les nôtres, et que leur moelle, plus épaisse, se comporte à la chaleur autrement que chez nous. Ajoutons à cela que nous employions ici, pour la préparation du virus fixe, des lapins de tailles diverses dont les moelles, inégalement épaisses, se desséchaient inégalement dans les mêmes conditions, de sorte que la virulence ne décroissait pas par degrés réguliers suivant l'âge de la moelle. Il arrivait en effet quelquefois, dans les inoculations intracraniennes de ces séries de moelles, qu'une moelle vieille tuait plus rapidement le lapin qu'une moelle plus jeune. Tout cela faisait que les vaccinations avec ces moelles desséchées restaient toujours problématiques et pouvaient quelquefois devenir dangereuses. Il m'est arrivé, comme à Frisch, de tuer des chiens par des inoculations journalières et graduelles des moelles de 10 jours à 1 jour.

Ces inconvénients me conduisirent à chercher une autre méthode plus sûre. J'en trouvai les éléments dans les travaux de M. Pasteur qui, à propos de quelques expériences de vaccination, avait émis l'idée que la dessiccation des moelles diminuait non la virulence, mais la quantité du virus. Par exemple, une émulsion étendue de virus de la rage des rues tue les animaux moins vite qu'une émulsion concentrée. S'il en est ainsi, la vaccination avec des moelles de plus en plus jeunes revient à une vaccination avec des doses de plus en plus fortes, et on peut arriver au même résultat en produisant la dilution directement, et en vaccinant avec des émulsions d'abord faibles, puis de plus en plus concentrées.

sont morts au bout de 10 à 11 jours. Les deux non vaccinés sont morts en 18 et 20 jours.

3° Des expériences analogues sur des lapins ont eu les mêmes résultats négatifs.

Cette méthode permet de doser le virus d'une façon plus précise que par la dessiccation. On prend dans la moelle allongée, spécialement dans sa substance grise, une certaine quantité de matière virulente qu'on pèse et qu'on étend avec le volume d'eau voulu pour la dilution. Le virus est si uniformément distribué dans la substance grise du plancher du quatrième ventricule, qu'on n'observe aucun changement appréciable dans la durée de 6 à 7 jours de la période d'incubation de la rage chez les animaux inoculés avec les diverses parties de cette substance. Il est vraisemblable que dans les gros morceaux de moelle desséchée qu'on emploie, la distribution du virus est moins régulière.

C'est par cette méthode que j'ai fait toutes mes expériences de l'année dernière, et en dehors des quatre chiens rendus réfractaires, dont j'ai parlé plus haut, j'en ai vacciné 30 autres dont 25 ont été doués d'une immunité absolue, je veux dire, résistant à une inoculation intracranienne. Il va sans dire que tous, y compris les 5 derniers, avaient résisté à l'inoculation la moins dangereuse, la morsure par un chien enragé.

Mes dilutions ordinaires étaient de 10, 100, 200, 250, 500, 1,000, 5,000 et 10,000 parties de liquide pour 1 partie de moelle. Je les désignerai par ces chiffres de 10, 100, etc. Le liquide était une solution stérilisée de sel marin à 7 grammes par litre. Je broyais très finement pour obtenir une égale répartition de la moelle et pouvoir compter sur la constance du poids du virus dans chaque centimètre cube. En injectant ces dilutions sous la dure-mère de lapins, on observe facilement une augmentation de virulence. La dilution 10,000 ne tue plus le lapin; la dilution 5,000 ne le tue pas sûrement et l'incubation est très longue. Les dilutions plus faibles, jusqu'à 250, donnent des incubations de plus en plus courtes. Les trois premières dilutions sont aussi actives que des émulsions concentrées. Je n'ai jamais observé une gradation aussi régulière de phénomènes en opérant avec des moelles desséchées.

J'employais donc ces dilutions comme des moelles d'âges divers. Pour le traitement intensif, je passais à brefs intervalles des dilutions étendues aux dilutions concentrées, et je répétais plusieurs fois le traitement. J'ai fait ainsi au moins 70 vaccinations préventives sur des animaux, sans avoir aucun accident attribuable à la vaccination.

III. — VACCINATIONS AVANT L'INFECTION, FAITES AVEC DES DILUTIONS DE MOELLE.

Je vais maintenant, comme je l'ai fait plus haut, ranger sous un certain nombre de chefs principaux, mais en donnant plus de détails, les résultats obtenus par cette méthode.

a. — Trois jours d'inoculation sous-cutanée de virus fixe dilué n'ont pas donné l'immunité contre une inoculation intracranienne de virus fixe.

Six chiens, inoculés avec 1cc de virus fixe (I. 6 — M. 8)[1]. Dilutions 1000, 500, 250, 100, 10. Quantité de moelle introduite : 0,354 gr. Tous ces chiens ont succombé, en 6 à 11 jours, à l'inoculation du virus fixe sous la dure-mère.

b. — Trois jours d'inoculation sous-cutanée du virus fixe dilué ont donné, dans 2 cas sur 6, l'immunité contre l'inoculation intracranienne du virus, faible et fort, de passage du chien.

Expérience I. — Trois chiens ont reçu tous les jours 1cc des dilutions 1000, 500, 250, 100 et 10 d'un virus fixe (I. 6,5 — M. 8,5). Quantité de moelle inoculée dans les 3 jours : 0,351 gr. Quatorze jours après, deux chiens sont trépanés et inoculés avec du virus fort de la rage des rues (I. 9 — M. 10). Ils succombent en 15 et 24 jours. Le 3e chien, inoculé de la même façon avec du virus de la rage des rues (I. 12 — M. 15), 29 jours après la fin des vaccinations, meurt après 18 jours, mais de la rage mue, tandis que les autres étaient morts de rage furieuse.

Expérience II. — Deux chiens reçoivent, toutes les deux heures et pendant 3 jours, des injections de dilutions de virus fixe (I, 7 — M. 9) comme dans l'expérience précédente. Neuf jours après, une inoculation du virus de la rage des rues montre qu'ils sont réfractaires.

Expérience III. — La même que la précédente, faite seulement sur un chien, et avec un autre virus fixe. Trépanation et inoculation avec du virus des rues, 24 heures après la vaccination. Le chien meurt en 16 jours, de la rage mue.

c. — Trois jours d'inoculation intratrachéale de virus fixe ont donné dans un cas l'immunité contre l'infection intracranienne avec du virus fixe.

1. Voir pour cette abréviation la note de la p. 431 de ce volume.

Un chien a reçu dans la trachée le 1er jour : Dilution 2000, 5cc; Dil. 1000, 2cc; Dil. 500, 3cc; Dil. 250, 2cc; Dil. 100, 1cc. Le second jour Dil. 1000, 4cc; Dil. 500, 3cc; Dil. 250, 2cc; Dil. 100 et 10, 1cc. Le 3e jour, comme le second. Quantité totale injectée : 0,286 gr. Neuf jours après, inoculation intracranienne avec du virus fixe (I. 8 — M. 10). L'animal se montre réfractaire, et résiste ultérieurement à une autre infection intracranienne.

d. — Quatre jours d'inoculation sous-cutanée avec du virus fixe ont donné dans quatre cas l'immunité contre une infection intra-oculaire.

Quatre chiens reçoivent le 1er jour, sous la peau du dos, 3cc des dilutions 10000,8000, et 6000, et 2cc de la dilution 5000 d'un virus fixe (I. 6 — M. 8). Le second jour, ils reçoivent 2cc de la dilution 2000, et 1cc des dilutions 1000, 500, 200, et 100 d'un virus (I. 5, — M. 8). Le 3e jour, 1cc des dilutions 500, 200, 100 et 10 d'un virus (I. 8 — M. 11). Enfin, le quatrième jour, 2cc de la dilution 2000, et 1cc des dilutions 1000, 500, 100 d'un virus (I. 6 — M. 9). La quantité totale du virus injecté est à peu près de 0,156 gr. On fait subir à ces chiens, 85 jours après la fin des vaccinations, une inoculation intra-oculaire avec du virus de la rage des rues. Ils résistent, tandis qu'un chien de contrôle meurt en 14 jours.

e. — Six jours d'inoculation avec des dilutions de virus fixe ont donné, à 8 chiens sur 12, l'immunité contre l'infection intracranienne ou intraoculaire faite avec du virus de la rage des rues. Sur trois des chiens restants, l'apparition de la rage a été retardée. Le dernier chien est mort de rage mue dans les délais normaux.

Expérience I. — Trois chiens reçoivent, pendant 6 jours et 5 fois par jour, toutes les deux heures, des inoculations sous-cutanées des dilutions 1000, 500, 250, 100 et 10 d'un virus de passage. 56 jours après, inoculation intracranienne avec du virus de la rage des rues (I. 15 — M. 17) : 2 chiens résistent; le 3e meurt, 20 jours après, de rage mue.

Expérience II. — Même mode d'inoculation, sur cinq chiens, conduit de la façon suivante :

1er jour, 3cc des dil. 5000, 2000, 1000, et 2cc des dil. 500 et 200 d'un virus de passage (I, 7 — M. 9).

2e jour, 3cc des dil. 2000 et 1000; 2cc des dil. 500 et 200, et 1cc de la dil. 100 d'un virus (I. 6 — M. 10).

3e jour, 3cc de la dilution 1000; 2cc des dil. 500 et 200, et 1cc des dil. 100 et 10 d'un virus (I. 6 — M. 7).

4e jour, 2cc des dil. 1000, 500, et 200, et 1cc des dil. 100 et 10 d'un virus (I. 7 — M. 9).

5e et 6e jour, comme le quatrième, et avec la même moelle conservée

1 et 2 jours dans la glycérine. La quantité totale de moelle injectée est de 0,552 gr. Quatre jours après on trépane 4 de ces chiens, et on les inocule avec la moelle d'un lapin mort après inoculation d'un virus de la rage des rues. Sur ces 4 chiens, un meurt, après 27 jours, de la rage paralytique. Les 3 autres résistent. Le 5e chien, trépané 75 jours après la vaccination, et inoculé avec de la moelle de lapin rabique, résiste aussi.

Expérience III. — Comme la précédente, sauf que le second et le 3e jour on a employé le virus du 1er jour, et le 6e le virus du 5e. Il n'y a donc eu que trois jours de moelle fraîche. Les 4 chiens ainsi traités ont reçu, 148 jours après la fin des vaccinations, et en même temps que quatre chiens de contrôle, une injection intraoculaire de quelques gouttes d'une émulsion de virus de rage des rues. Les 4 chiens de contrôle sont morts au bout de 13 à 21 jours. Deux chiens vaccinés sont morts après 27 jours. Deux ont résisté.

f. — Sept jours de vaccination avec des dilutions du virus fixe ont conféré dans trois cas l'immunité contre l'infection intracranienne avec le plus fort virus de passage.

Trois chiens reçoivent pendant 3 jours de suite, et toutes les deux heures, des injections sous la peau du dos, faites avec 1cc des dilutions 5000, 1000, 500, 250, 100 et 10 d'un virus fixe. Seize jours après on recommence le même traitement. Dans les deux cas, c'est la même moelle de lapin qui sert pendant les 3 jours. Trois mois et demi après la seconde vaccination, on recommence de même pendant un jour. Six semaines après ce dernier traitement, on les inocule sous la dure-mère avec du virus (I. 7 — M. 9). Ils résistent tous les trois. Ils avaient déjà résisté à une morsure de chien enragé, un mois après la dernière vaccination.

g. — Neuf jours de vaccination avec du virus fixe ont donné, à 7 chiens sur 8, l'immunité contre l'infection intracranienne avec du virus fixe.

Expérience I. — Les 24, 25, 26 mars, et les 4, 5, 6, 18, 19 et 20 avril 1887, on injecte, toutes les deux heures, sous la peau du dos de 3 chiens, 1cc des dilutions 5000, 1000, 500, 250, 100 et 10 du virus fixe. La quantité totale de moelle injectée est de 1gr,053. Le 4 mai 1887, on inocule, sous la dure mère de ces chiens et de deux chiens de contrôle, du virus fixe (I. 7 — M. 9). Deux chiens vaccinés résistent; le troisième meurt après 14 jours, avec un retard, car les chiens de contrôle meurent en 9 et 11 jours.

Expérience II. — Même expérience sur 4 chiens les 1, 2, 3, 8, 9, 10, 15, 16 et 17 septembre 1887. Tous ces chiens résistent, le 10 octobre, à une inoculation intracranienne de virus fixe.

Expérience III. — Même expérience sur un chien les 16, 17, 18, 27, 28,

29 juillet et 8, 9 et 10 août 1887. Trépanation le 19 octobre. Le chien résiste à l'inoculation du virus fixe.

On voit que toutes ces expériences concluent dans le même sens. Je me crois donc autorisé à dire que cette méthode permet de bien doser la quantité de virus à injecter, et qu'elle met à l'abri des erreurs qui peuvent provenir de la grosseur inégale des lapins d'expérience.

IV. — VACCINATIONS, APRÈS INFECTION, FAITES AVEC DES DILUTIONS DE MOELLES.

Le principe des vaccinations après infection est de communiquer aux centres nerveux l'immunité contre le virus, avant qu'ils ne subissent l'action de l'infection antérieure. Le résultat à obtenir dépend donc du degré de virulence du virus infectieux, de son lieu et de son mode d'inoculation, de la quantité inoculée, de l'époque de la vaccination par rapport au moment de l'infection. Au point de vue pratique, pour démontrer l'importance de la vaccination chez l'homme. il suffirait de montrer qu'elle est efficace après une morsure rabique. Au point de vue scientifique, il est intéressant de se demander si la vaccination après infection est protectrice contre les modes d'infection les plus puissants.

Dans les recherches suivantes, j'ai étudié l'effet de ces vaccinations non seulement contre les morsures rabiques et les inoculations sous-cutanées, mais encore contre l'inoculation intraoculaire ou intracranienne, et non seulement avec le virus des rues. mais avec le virus de passage le plus fort. Voici. brièvement résumés, les résultats de mes recherches.

a. — Infection sous-cutanée. Vaccination ultérieure.

EXPÉRIENCE I. — *Virus fixe* (I. 9 — M. 10). Le 3 février 1888, on injecte $0^{cc},5$ d'une émulsion de ce virus sous la peau de l'oreille de 8 chiens, dont 4 restent sans traitement, et 4 reçoivent du 3 au 9 février, de deux heures en deux heures, chaque jour 1^{cc} des dilutions 1000, 500, 250, 100 et 10 de virus fixe. La quantité totale de moelle injectée est de 0,702 gr. Trois de ces derniers chiens sont restés en vie; le quatrième est mort au bout de 19 jours. Des quatre chiens non traités, deux sont morts après 18 et 19 jours, de la rage paralytique; un troisième a montré le 19e jour des symptômes de rage furieuse et a guéri au bout de 3 jours. Le quatrième est resté en bonne

santé. 63 jours après l'infection et 56 jours après la fin des vaccinations, les cinq chiens restés en vie subissent une inoculation intracranienne de virus de la rage des rues. Deux des chiens non vaccinés et 1 vacciné sont morts; deux chiens vaccinés ont résisté.

Expérience II. — *Virus des rues.* — Le 27 mars 1888, 8 chiens reçoivent, sous la peau de l'oreille, 0cc,25 d'une émulsion de moelle de lapin mort 27 jours après infection avec du virus de la rage des rues. Quatre de ces chiens restent sans traitement, quatre reçoivent tous les jours sous la peau, de 2 heures en 2 heures, 1cc des dilutions suivantes de virus fixe : 28 mars, 5000, 2000, 1000, 500, 200; 29 mars, 2000, 1000, 500, 200, 100; 30 mars et 3, 4 et 5 avril, 1000, 500, 200, 100 et 10. La quantité totale de moelle injectée est de 0,552 grammes. Tous ces chiens restent en bonne santé pendant 4 mois et demi. On les soumet tous, 146 jours après l'infection, à une inoculation intraoculaire de virus de la rage des rues. Les quatre chiens non vaccinés meurent en 13, 15, 19 et 21 jours; deux des chiens vaccinés en 25 et 27 jours. Les deux autres résistent.

b. — Infection par morsure. Vaccination ultérieure.

Pour ces infections, on introduisait simplement dans la cage d'un chien enragé le chien à infecter après lui avoir rasé la tête, parce que c'est là d'ordinaire qu'ont lieu les morsures. Plus tard, je lui ai même attaché les pattes et fermé la gueule, de façon à donner mieux prise au chien enragé. J'obtenais ainsi des fortes morsures au visage, par lesquelles, comme on le sait, l'infection est à peu près sûre.

Expérience I. — Le 23 mars 1887, 4 chiens sont mordus par un chien enragé, malade depuis 3 jours, et qui mourut 6 jours après. Vaccinations de 2 chiens le 24, 25 et 26 mars, et les 4, 5, 6, 18, 19 et 20 avril, avec 1 centimètre cube des dilutions 5000, 1000, 500, 250, 100 et 10 de virus fixe, inoculé de 3 heures en 3 heures sous la peau du dos. La quantité totale inoculée est de 1gr,053. Deux chiens restent sans traitement. Un de ces derniers meurt au bout de 38 jours. Le second et les deux chiens vaccinés résistent. On les soumet plus tard à une inoculation intracranienne avec du virus (I. 7 — M. 9, 5). Le chien non vacciné meurt. Les deux autres résistent.

Expérience II. — Le 15 juillet 1887, 6 chiens sont mordus par un chien enragé; 3 restent sans traitement, 3 autres reçoivent sous la peau du dos, de 2 heures en 2 heures, les 16, 17, 18, 27, 28, 29 juillet et 8, 9 et 10 août, un centimètre cube des dilutions 1000, 500, 250, 100 et 10 de virus fixe. La quantité totale de moelle injectée est de 1gr,053. Un des chiens traités meurt de pneumonie double, un des chiens non traités meurt 36 jours après la morsure sans symptômes de maladie. Les quatre autres restent en bonne santé. Trois mois après la morsure, on les soumet tous quatre à une

inoculation intracranienne de virus fixe. Les deux chiens non vaccinés meurent en 8 et 9 jours de la rage. Un des chiens vaccinés résiste ; le second meurt d'une pneumonie.

Expérience III. — Le 2 et le 3 juin 1888, 7 chiens, mordus par un chien enragé, portent chacun 5 à 6 morsures contuses ou saignantes au visage. 3 restent sans traitement. Les quatre autres reçoivent : le 3 juin, 3cc des dilutions 10000, 8000, 6000 et 5000 de virus de passage ; le 4 juin, 2cc des dilutions 2000, 1000, 500 et 200 ; le 5 juin, 1cc des dilutions 500, 200, 100 et 10 ; le 9 juin, 1cc des dilutions 2000, 1000, 500, 200, 100 du même virus. Le total des quantités de moelle injectée est de 0,156 grammes. Des trois chiens non traités, l'un est mort après 27 jours, de la rage ; un autre est mort après 9 jours, mais la rage est restée douteuse ; le troisième a présenté le 18e jour des symptômes de rage paralytique qui ont disparu. Un mois et demi après, il a montré de nouveau de la paralysie aux membres postérieurs, en même temps que des symptômes d'excitation, il mordait le bâton, etc. Mais il s'est rétabli de cette seconde attaque. Les quatre chiens vaccinés ont résisté, et ont supporté aussi, quatre mois après, une inoculation intraoculaire avec du virus de la rage des rues.

c. — *Infection intracranienne. Vaccination ultérieure.*

Epérience I. — Le 22 janvier 1887, infection de 8 chiens et d'un lapin avec du virus fixe, de 8e génération chez le chien (I. 8 — M. 9, 5). Le lapin et deux chiens restent sans traitement. Les 6 autres chiens reçoivent les 23, 24, 25, 29, 30 et 31 janvier, et de 2 heures en 2 heures, sous la peau du dos, 1cc des dilutions 5000, 1000, 500, 250, 100 et 10 de virus fixe. Tous ces animaux, traités et non traités, sont morts de la rage, les chiens après 10 à 16 jours, le lapin après 14 jours.

Pour abréger, je n'indique pas les données de quatre autres expériences, ayant porté sur 15 chiens et 2 lapins, qui ont subi une inoculation intracranienne de virus fixe ou de virus de la rage des rues, et qui ont été vaccinés par des inoculations sous-cutanées ou intratrachéales de dilutions variées de virus fixe. Je n'ai obtenu dans aucun cas de résultat positif. Je ne citerai qu'une autre expérience où le succès a été un peu meilleur.

Expérience. — Dans une expérience antérieure, qu'on trouvera page 463 de ce mémoire, j'avais vu l'injection de 0,5 gr. de virus fixe frais donner 5 fois sur 7 l'immunité vis-à-vis de l'inoculation intracranienne du virus des rues. On pouvait espérer que cette méthode serait efficace aussi vis-à-vis d'une inoculation antérieurement faite. Aussi le 27 juin 1888, on inocule sous la dure-mère de 10 chiens la moelle d'une femme morte de rage. Deux de ces chiens restent ensuite sans traitement ; huit autres reçoivent sous la

peau $0^{gr},5$ de moelle contenant du très fort virus de passage (I. 6 — M. 8, 5). De ces 8 chiens, 7 meurent en 12 à 25 jours de la rage paralytique ou de la rage furieuse. Le huitième présente, le 12e jour, des phénomènes paralytiques qui durent 10 jours, mais il se guérit, et vit encore. Des deux chiens de contrôle, l'un est mort de rage furieuse le 24e jour; l'autre a montré du 10 au 22e jour des symptômes de rage furieuse qui ont disparu. Il vit encore.

d. — Infection intraoculaire. Vaccination ultérieure.

Expérience. — Le 22 août 1888, on injecte quelques gouttes d'émulsion de virus de la rage des rues dans la chambre antérieure de l'œil de 9 moutons. Le virus provenait de la moelle d'un enfant de huit ans, mort 45 jours après une morsure. Deux de ces moutons restent sans traitement; chez les sept autres, on injecte, 5 heures après l'infection intraoculaire, 1cc d'une émulsion de virus fixe (I. 8 — M. 10) dans la veine jugulaire, et on recommence, 24 heures après l'infection, avec un nouveau virus (I. 8 — M. 9). Tous ces moutons sont morts au bout de 12 à 25 jours. Le résultat est moins heureux que celui qu'avaient obtenu MM. Nocard et Roux, après introduction du virus dans la jugulaire de moutons inoculés au préalable dans l'œil.

Nous avons vu les vaccinations après infection rester sans résultat, lorsqu'elles étaient faites avec de la moelle desséchée. Avec les dilutions de moelle, les résultats sont variables, mais meilleurs.

Les vaccinations sous-cutanées avec du virus fixe, succédant à une inoculation intracranienne avec du virus fixe, n'ont sauvé, dans dix cas, aucun des animaux et n'ont même pas produit une augmentation de la période d'incubation.

Ces mêmes vaccinations sous-cutanées se sont montrées dans trois cas impuissantes après une inoculation intracranienne avec le virus de la rage des rues. Faites dans la trachée, elles ont empêché une fois sur cinq l'apparition de la rage.

Une seule injection sous-cutanée de virus fixe, employé en grande quantité (0,5 gr. de moelle), n'a sauvé qu'un des 10 chiens trépanés et inoculés avec le virus de la rage des rues.

Plusieurs injections sous-cutanées de virus fixe en grande quantité (jusqu'à 3,5 gr. de moelle) se sont montrées impuissantes après une infection intraoculaire avec le virus des rues. Elles ont seulement allongé dans un cas la période d'incubation.

Plusieurs injections trachéales de virus fixe, en grande

quantité, se sont montrées efficaces, deux fois sur cinq, après une infection intraoculaire avec le virus de la rage des rues.

Deux injections intrajugulaires avec une petite quantité de virus fixe n'ont sauvé aucun des moutons ayant antérieurement subi une injection intraoculaire de virus de la rage des rues.

Donc, aucun résultat pour les vaccinations faites avec des dilutions de virus fixe, et succédant à une infection intracranienne avec du virus fixe; résultats partiels, lorsqu'elles suivaient une infection intracranienne ou intraoculaire avec du virus de la rage des rues. Mais il en est autrement pour les vaccinations faites avec ces mêmes dilutions, et succédant à une infection sous-cutanée ou à une morsure rabique. Sur 8 chiens ainsi traités, aucun n'a contracté la rage, tandis que sur les 8 chiens de contrôle, mordus par les mêmes animaux, 5 ont été malades de rage, 4 en sont morts, 1 s'en est sauvé.

Ces résultats suffisent pour assurer la pratique des vaccinations antirabiques. On n'a pas en effet le droit d'arguer, comme M. Frisch, de l'insuccès de la vaccination après des modes d'infection aussi violents que l'inoculation intracranienne ou intraoculaire, à son inefficacité dans tous les cas. Il suffit, au point de vue pratique, qu'elle se montre efficace vis-à-vis des modes les plus usuels d'infection, et, au point de vue théorique, qu'elle donne quelques succès pour d'autres modes d'infection, tellement combinés que leur guérison est une espèce de paradoxe.

Ces essais avec des moelles fraîches diluées conduisent à se poser un nouveau problème et à se demander si la vaccination est nécessairement quelque chose d'aussi compliqué que dans les essais précédents, et ne pourrait pas être obtenue par des moyens plus simples. La moelle fraîche peut en somme, nous venons de le voir, lutter contre l'infection. Le résultat dépend du mode d'administration; donc, en variant ce mode, on peut espérer obtenir la vaccination par d'autres procédés que les procédés usuels. C'est à cet ordre d'idées que correspondent les expériences suivantes :

a. — Une seule inoculation de virus par une morsure rabique ne confère aucune immunité contre une infection intracranienne faite avec du virus fort, ou une infection intraoculaire avec du virus faible.

Expérience I. — Deux chiens, fortement mordus par un autre chien atteint de rage furieuse, restent bien portants 4 mois. Au bout de ce temps, on leur inocule sous la dure-mère du virus de passage (I. 7 — M. 9). Ils meurent tous deux en 8 et 9 jours de la rage furieuse.

Expérience II. — Un chien mordu par un chien atteint de rage furieuse présente, au bout de 18 jours, des symptômes de rage paralytique qui disparaissent au bout de 11 jours; 60 jours après la morsure, quelques attaques de paralysie, dont l'animal se rétablit. Un mois après ces attaques, inoculation intraoculaire du virus de la rage des rues, à laquelle l'animal succombe le 17_e jour.

Dans ce dernier cas, une première attaque de rage n'avait pas conféré à l'animal l'immunité contre une injection intraoculaire du virus. Mais elle l'aurait peut-être protégé contre une nouvelle morsure rabique.

b. — Une seule injection sous-cutanée de virus des rues a donné, une fois sur cinq cas, l'immunité contre une infection intracranienne du même virus.

Expérience I. — Quatre chiens reçoivent sous la peau de l'oreille $0^{cc},25$ d'une émulsion d'un virus des rues (I. 19 — M. 21), et restent bien portants pendant 5 mois, au bout desquels ils subissent une injection intraoculaire de virus de la rage des rues. Ils meurent tous, en 13 à 21 jours, de la rage paralytique ou de la rage furieuse.

Expérience II. — A un chien âgé de 2 mois, on fait une injection sous-cutanée de $0^{cc},5$ d'une émulsion de virus de rage des rues, et on essaie son immunité, 17 jours après, par une inoculation intracranienne de virus de passage faible (I. 11 — M. 16,5). L'animal résiste.

c. — Des injections sous-cutanées répétées de virus de rage des rues ont rendu un chien réfractaire non seulement vis-à-vis du même virus, mais aussi contre une infection intracranienne avec le plus fort virus de passage.

Expérience. — Cette expérience a été commencée en 1884 par feu M. le Prof. Azary. Il introduisit sous la peau du dos d'un chien, gros comme un pois de la moelle d'un chien mort de rage. Ce chien tomba malade de la rage, mais se rétablit. Plus tard, pour savoir s'il était réfractaire, on lui fit une injection sous-cutanée de moelle d'un chien rabique, à laquelle il résista. De 1884 à 1886, il subit 11 inoculations pareilles avec du virus de la rage des rues, et en outre plusieurs morsures de chiens enragés. Il supporta tout très bien. En octobre 1887, il supporta aussi dans mon laboratoire, une inoculation intra-crânienne avec du virus fort (I. 7 — M. 9) qui tua en 6 et

8 jours deux chiens de contrôle. J'ai soumis depuis ce chien aux épreuves les plus variées, il les a toutes surmontées et vit encore.

d. — Une seule inoculation sous-dermique du virus fixe a donné à 2 chiens sur 3 l'immunité contre l'inoculation intracranienne du virus fixe. Même résultat, pour 1 chien sur 4, avec une injection sous-cutanée du même virus, contre une injection intracranienne de virus de la rage des rues. Même résultat, contre la même injection, pour 5 chiens sur 7, obtenu avec une inoculation préventive du même virus, inoculé seulement en plus grande quantité.

Expérience I. — Trois chiens, qui avaient supporté l'inoculation d'une émulsion concentrée de virus fixe (I. 6 — M. 9) sous la peau du front préalablement rasée et scarifiée, et en outre une inoculation de quelques gouttes de la même émulsion sous la peau du nez, sont soumis 49 jours après, à une inoculation intra-crânienne de virus fixe (I. 7 — M. 9). Un meurt le 10e jour de rage paralytique; les autres survivent.

Expérience II. — Trois chiens, qui avaient reçu sous la peau de l'oreille une injection de virus de passage (I. 9 — M. 10) subissent 61 jours après, une inoculation intracrânienne de virus de la rage des rues (I. 15 — M. 27.) Ils meurent tous, de 11 à 19 jours après.

Expérience III. — C'est l'histoire du 2e cas de mon mémoire précédent qu'on trouvera à la p. 430 de ce volume.

Expérience IV. — Sur 7 chiens qui avaient subi l'inoculation, sous la peau du dos, d'une émulsion contenant 0,5 grammes de moelle de virus fixe (I. 7 — M. 9), un meurt le 9e jour de rage paralytique, et les 6 autres, restés en bonne santé, subissent, 54 jours après, une inoculation intracranienne de virus de la rage des rues. L'un de ces chiens meurt le 17e jour. Les autres résistent.

e. — Deux inoculations sous-cutanées de petites quantités de virus ont donné à un chien l'immunité contre une inoculation intracranienne.

Expérience. — On injecte, sous la peau de la nuque d'un chien de 38 jours, né au laboratoire, $0^{cc},5$ d'une émulsion de virus de la rage des rues. (I. 19 — M. 21). 27 jours après, on renouvelle cette injection avec du virus fixe. Le chien, à l'âge de 5 mois, est soumis à une inoculation intracranienne de virus de la rage des rues, et la supporte.

Tous ces résultats montrent bien que la vaccination peut quelquefois être produite par des moyens très simples, et ce fait a quelque importance au point de vue théorique ; mais, dans la

pratique, la simplicité exclut dans une certaine mesure la sécurité. Il faut dans la vaccination antirabique procéder avec prudence, et, à ce point de vue, mes études sur la vaccination, avant et après infection, montrent une fois de plus *que le traitement antirabique de Pasteur repose sur une base expérimentale sûre*, appuyée par des recherches sur des animaux. En les vaccinant avant l'infection, on peut les protéger dans la plupart des cas contre les modes d'infection les plus puissants et les plus variés. En les vaccinant après infection, on peut les protéger contre le mode d'infection le plus usuel, l'infection par morsure. *Ces résultats sont d'autant plus probants qu'ils ont été obtenus par une autre méthode que ceux de Pasteur, avec lesquels ils sont pourtant d'accord.*

Ces recherches sur les animaux étaient nécessaires, parce qu'elles sont la seule base de la méthode de vaccination humaine. Elles étaient d'autant plus utiles, que cette méthode avait été mise en suspicion par les expériences de Frisch et d'autres antivaccinateurs. Nous avons indiqué plus haut la cause vraisemblable des résultats négatifs de Frisch, que nos résultats positifs rendent d'ailleurs sans valeur.

Ces études ont duré trois ans. Je n'aurais pu les commencer sans l'appui bienveillant que m'a prêté l'Académie Hongroise des Sciences, et dont je lui suis reconnaissant. Je remercie aussi le Parlement et le Ministre de l'Instruction publique pour l'appui matériel qu'ils m'ont fourni, et le conseiller municipal M. Gustave Fuchs qui a dépensé pour moi une somme considérable. Qu'il me soit permis aussi de remercier le personnel de mon Institut, que j'ai vu toujours si actif à mes côtés pendant ces trois années de recherches pénibles et dangereuses : MM. Dr Jos. Lote, *docent;* Dr Karl Szigethy, Dr August. Székely, Dr Josef Kovacs, Franz Tangl et Ludwig Sebess ont une part importante dans le succès de ces études.

SUR LES BACTÉRIES BIOPHYTES

NOTE SUR LA SYMBIOSE DE PUCERONS AVEC DES BACTÉRIES

Par M. J. KRASSILSTCHIK, à Odessa.

En poursuivant mes recherches sur les maladies des insectes occasionnées par des parasites végétaux, j'ai été conduit à me demander si, chez les représentants de la famille des Aphidiens, il y a des maladies provoquées par des microorganismes (bactéries). Chez ces insectes on ne connaît encore que des parasites du genre Entomophthora [1], si l'on ne compte pas les Coccidies, découvertes chez les Aphidiens par M. R. Leuckart, et appartenant au règne animal.

Les recherches dont je vais noter ici les résultats portent sur les espèces suivantes :

1. *Lachnus pruni* (vivant sur le *Prunus domestica*). — 2. *Pemphigus bursarius* (sur *Populus pyramidalis*). — 3. *Phylloxera vastatrix* (sur *Vitis vinifera*). — 4. *Coccus* sp. (sur les feuilles de *Prunus domestica*). — 5. *Aphis ribis* (ibidem). — 6. *Aphis grossulariæ* (sur *Ribes grossularia*). — 7. *Aphis* (*Lachnus ?*) *quercus* (sur *Quercus sessiliflora*). — 8. *Aphis persicæ* (sur *Amygdalus persica*). — 9. *Aphis rosæ* (sur *Rosa* sp.). — 10. *Aphis cerasi* (sur *Prunus cerasus*). — 11. *Aphis papaveris* (?) (sur *Phaseolus vulgaris*). — 12. *Aphis pruni* (?) (sur *Onopordon Acanthium*). — 13. *Lachnus juglandis* (sur *Juglans regia*). — 14. *Aphis mali* (sur *Pyrus malus*). — 15. *Aphis* sp. (sur *Robinia pseudo-acacia*). — 16. *Aphis tiliæ* (sur *Tilia grandifolia*). — 17. *Aphis* sp. (sur *Polychonum sachararum*). — 18. *Aphis* sp. (sur *Atriplex cupreata*). — 19. *Pemphigus Z. Maïdis* (?)

1. Voir mon article : *De insestorum morbis qui fungis parasitis efficiuntur*, Mémoires de la Société des Naturalistes de la Nouvelle Russie, 1886, t. XI, première partie.

(sur *Zea Mays*). — 20. *Aphis platanoïdes* (?) (sur *Acer platanoïdes*).

Les recherches ont été faites au mois de juin dernier. Tous les pucerons furent trouvés dans le meilleur état de santé, excepté quelques-uns, attaqués par des larves d'*Ichneumonides*. Tous les exemplaires examinés ont été dilacérés à l'aide d'aiguilles dans une goutte d'eau distillée et stérilisée, contenant du sel de table (0gr.75 pour cent). Je me suis servi des grossissements moyens (3 + DD ou F du microscope de Zeiss).

Dans les pucerons numéros 13 à 20 (pour plus de brièveté nous nous servirons des numéros au lieu des noms correspondants des insectes), j'ai trouvé des microorganismes, notamment des bacilles. Ces microorganismes ne sont pas disséminés partout dans le corps des pucerons. Au contraire, ces bacilles habitent toujours et exclusivement des points bien déterminés dans l'intérieur du corps des insectes, et, en outre, ils habitent *toujours les mêmes points*. Pour nous mieux orienter dans la topographie de ces points, il est nécessaire de donner quelques détails sur l'anatomie de certains organes de nos pucerons.

Les pucerons, on le sait, changent avec la saison. Nos recherches n'ayant été faites qu'au mois de juin, nous n'aurons à parler que des générations d'été. Or, dans les vingt espèces ci-dessus énumérées, ces générations sont représentées par des femelles agames, c'est-à-dire se reproduisant sans accouplement. Toutes ces femelles, excepté celles du numéro 3, sont vivipares. Leurs ovaires, composés de tubes ovigères plus ou moins nombreux, contiennent dans chaque tube une longue série d'embryons dont le développement est d'autant plus avancé que l'embryon est plus près de l'oviducte. Cette reproduction a lieu avec une telle rapidité que les embryons les plus jeunes, — les plus près de la « chambre germinative », — qui ont à peine passé les premières phases du développement, (le fractionnement de l'œuf et la formation du blastoderme), sont déjà pourvus dans leur intérieur d'une puissante agglomération de cellules qui donneront naissance à l'appareil génital futur. Ce fait nous explique pourquoi les jeunes, encore longtemps avant leur sortie du corps de la mère, possèdent déjà non seulement des chambres germinatives et des tubes ovigères, mais aussi de jeunes embryons dans ces derniers.

Reste encore à noter un autre organe des pucerons, le *vitellin secondaire* de Metchnikoff (*secundare Dotter*) ou *Pseudovitellus* de Huxley. Cet organe, dont la fonction reste encore problématique, malgré les nombreuses recherches et les hypothèses émises par des zoologistes, occupe la partie dorsale dans l'intérieur de la moitié postérieure du corps du puceron. Il est composé de très grandes cellules uniformes formant un grand bicorne disposé symétriquement à l'axe sagittal de l'insecte (les cornes en avant). Il est remarquable que le développement de cet organe dans l'embryon commence de très bonne heure, même avant la formation des premières cellules donnant naissance à l'appareil génital; cela prouve la grande importance de cet organe pour les fonctions vitales de l'insecte. Dans les pucerons âgés, les tubes ovigères sont disposés latéralement et un peu sous le pseudovitellus. Au-dessus de ce dernier nous trouvons une couche de cellules adipeuses, puis l'hypoderme, puis la cuticule.

Ces détails nous suffisent pour nous orienter dans la topographie des parties du corps des pucerons servant de lieu d'habitat à nos bacilles.

Si l'on dilacère un puceron appartenant à une des espèces n°s 13 à 19, après l'avoir préalablement flambé, et si l'on examine dans une goutte d'eau stérilisée l'ensemble de ses organes, on observe une quantité plus ou moins considérable de bacilles. L'examen détaillé de chacun des organes à part prouve que ni dans le tractus intestinal, ni dans les organes glandulaires, ni dans les muscles, ni dans le système nerveux il n'y a de microorganismes; ces derniers ont leur habitat unique *entre la couche des cellules adipeuses dorsales en dessus, et le pseudovitellus en dessous*. Les cellules adipeuses sont très répandues chez les pucerons ; elles forment des couches plus ou moins continues en dedans et sous tout l'hypoderme produisant la cuticule. Mais nulle part on ne trouve de bacilles en dehors de la partie où le pseudovitellus est sous-jacent aux cellules adipeuses. Comme le prouve un examen minutieux, les bacilles, dont le nombre est assez considérable, sont comprimés *entre* la couche des cellules adipeuses et le pseudovitellus, et jamais les bacilles ne pénètrent ni dans les cellules adipeuses elles-mêmes, ni dans celles du pseudovitellus.

Les bacilles varient d'une espèce à l'autre, mais dans chacune d'elles ils restent constamment les mêmes, quel que soit l'âge du puceron. Ainsi les bacilles du n° 13 mesurent ; longueur 10 μ, diamètre 1. 5 μ ; ceux du n° 14 : longueur 8-12 μ, diamètre 0,8 μ ; n° 15 : $l = 6\text{-}7\ \mu$, $d = 1{,}5\ \mu$; n° 16 : $l = 1{,}5\ \mu$, $d = 0{,}3\text{-}0{,}5\ \mu$; n° 17 : $l = 8\text{-}10\ \mu$, $d = 0{,}7\ \mu$; n° 18 : diamètre 0,8 μ, la longueur est un peu plus difficile à mesurer parce que les bacilles sont courbés (Spirochæta, Kommabacillus). Elle est approximativement de 10 à 12 μ. Le n° 19 possède des bacilles gigantesques, leur diamètre est de 2 μ, la longueur de 4 à 10 μ.

Dans aucun des représentants du n° 20 je n'ai pu trouver de bacilles dans les parties en question, mais, au contraire, le tractus intestinal regorgeait de tout petits bacilles (longueur à peine 1 μ à 1, 5 μ). Dans tous les autres numéros (n°s 1 à 12) je n'ai trouvé nulle part des bacilles ; ni sur la surface du pseudovitellus ni dans le tractus intestinal, ni dans d'autres organes de l'insecte.

Je me suis donné la peine de rechercher l'origine des bacilles dans les espèces qui en contiennent (n°s 13 à 19). Bien que j'aie examiné des centaines de ces pucerons et que pas un seul d'eux n'ait montré aucun symptôme d'un état maladif, la première idée qui m'était venue à l'esprit était que les bacilles en question sont des parasites, et ont pénétré dans le corps du puceron soit par la peau (la cuticule et l'hypoderme), soit par les orifices naturels de ses organes (bouche, anus, vulve, stigmates, etc. Une recherche étendue a renversé cette supposition : ni les cavités des organes, ni leurs tissus constitutifs, ni la cuticule, ni l'hypoderme ne contenaient jamais de micro-organismes. Mais un examen minutieux *des embryons* des pucerons m'a aidé à éclaircir la question. Et, en effet, j'ai pu constater que *tous les embryons (sans exception) hébergent dans leur intérieur les mêmes bacilles que leur mère pondeuse*. En examinant un tube ovigère contenant une série d'embryons à leurs degrés successifs de développement, on peut se persuader que *même les embryons les plus jeunes portent déjà des bacilles dans leur intérieur*. Comme nous l'avons indiqué ci-dessus, dans le plus jeune stade l'embryon consiste en une couche ellipsoïdale de cellules blastodermiques dans l'intérieur de laquelle se trouvent deux agglomérations de cellules dont l'une donne naissance à l'appareil génital

futur, l'autre au pseudovitellus. Ajoutons que dans le stade suivant, sur le pôle inférieur de la couche ellipsoïdale, se produit une invagination se dirigeant vers l'intérieur. C'est cette partie invaginée qui s'épaissit et forme la bande germinative (*Keimstreifen*) donnant naissance au thorax (sternum) avec ses pattes, et à l'abdomen. Le pôle opposé, où le blastoderme s'amincit et forme la *serosa*, correspond au dos futur du puceron. *Dans ce dos futur et sous la serosa on peut voir d'une manière on ne peut plus claire une couche continue de bacilles qui croissent en fils puissants de Leptothrix.* Cette couche de fils de Leptothrix repose sur les deux agglomérations de cellules indiquées ci-dessus, les autres organes du puceron futur manquant encore complètement. Avec le temps, ces derniers organes commencent à se produire, le développement de l'embryon avance, il se redresse, son dos se couvre d'une couche de cellules hypodermiques, et *les bacilles restent clos, dans le jeune puceron, au-dessous de l'hypoderme et au-dessus du pseudovitellus et de l'appareil génital embryonnaire.* Leur propagation d'une génération de pucerons à l'autre se fait sans doute ainsi : l'agglomération de cellules de l'embryon donnant naissance à l'appareil génital reçoit des bacilles qui se trouvent dans son voisinage et assure de cette manière leur transport aux œufs futurs dans les chambres germinatives qui se produiront, avec le temps, dans l'embryon. C'est ainsi que les jeunes embryons, dans les chambres germinatives des *plus jeunes larves de pucerons venus au monde*, possèdent déjà à leur tour de puissantes couches de fils de Leptothrix. Le développement de ces derniers a évidemment commencé de bien bonne heure.

Je crois utile de donner ici quelques détails sur la manière dont j'étudie les embryons. La recherche se fait, bien entendu, avec des instruments flambés et dans des liquides stérilisés. Dans une goutte d'eau distillée contenant $7^{gr}5$ de *sel* par litre, je dilacère sur le porte-objet un puceron dont un ou deux tubes ovigères, contenant des embryons, sont portés dans une goutte du même liquide sur un autre porte-objet. De deux côtés de la goutte je mets deux petites bandes métalliques bien minces et pourvues de manches, le couvre-objet repose dessus. Ces bandes empêchent les embryons d'être écrasés. En aspirant le liquide à l'aide de papier à filtre d'un côté et en ajoutant du liquide du côté opposé, je lave

d'une manière complète les tubes contenant les embryons. Un examen minutieux sous le microscope prouve que dans le liquide et généralement hors des tubes ovigères il n'y a aucune trace de bactéries. Au bout d'un quart d'heure environ les embryons, sous l'influence du sel, se sont contractés et séparés des parois du tube ovigère. Il est très facile de se convaincre que le tissu du tube est complètement libre de microbes ; il en est de même pour la cavité du tube ou l'espace devenu libre entre les parois du tube et les embryons. Mais dans la partie dorsale des embryons tout jeunes, on voit des faisceaux de fils de Leptothrix faisant saillie de l'intérieur de l'embryon dans la cavité du tube, et *l'on observe très bien la membrane de la serosa qui les enveloppe.* Avant la contraction de l'embryon, les mêmes fils de Leptothrix étaient bien visibles, et formaient une couche continue dans le même endroit. De même on peut observer, sur le dos des embryons plus âgés, que les fils de Leptothrix, à cause de la fermeture de la partie dorsale, ne font plus saillie à l'extérieur et sont déjà divisés en courts bacilles. Quand on retire les bandes métalliques et que le couvre-objet comprime les embryons, ces derniers se déchirent et laissent sortir dans l'eau environnante le contenu de l'embryon avec ses bacilles que l'on voit, avec une netteté parfaite, entourer le pseudovitellus, par-dessus, à l'arrière, et sur les côtés.

Nous recommandons aux personnes qui voudraient contrôler nos observations de se servir, pour la recherche, des pucerons appartenant aux n°s 13 et 15. Ce sont, pour ainsi dire, des objets classiques pour cet ordre de recherches.

Quelle est la nature de ces microorganismes et quelles sont leurs relations avec les pucerons qu'ils habitent ? Telle est la question qui se présente. Il est évident que nos bacilles ne sont ni des microorganismes saprophytes ni des parasites pathogènes. Habitant toute leur vie les espaces intercellulaires de tissus parenchymateux normaux et vivants, éloignés de toutes les cavités communiquant avec le monde extérieur, ils ne peuvent porter le nom de *saprophytes*. Mais ils ne méritent pas non plus le nom de *pathogènes*, puisque leur présence ne cause aucun mal aux pucerons. Au contraire, on peut dire qu'elle leur est devenue indispensable, puisque dans les embryons les plus jeunes, qui n'hébergent que les *origines* des organes principaux de l'insecte

futur, les bacilles sont déjà présents et *continuent à se développer parallèlement au développement du puceron lui-même*. Pas un seul puceron et pas un seul embryon n'en est privé, et le transport prématuré des bacilles d'une génération à l'autre prouve d'une manière bien évidente leur grande importance pour l'existence des pucerons. Pour les raisons que nous venons d'indiquer, nous proposons pour nos microorganismes le nom de *bactéries biophytes*, pour les distinguer des formes *saprophytes* et *pathogènes*.

Sans doute les bactéries biophytes sont aussi étrangères au corps de l'animal que toutes les autres bactéries ; mais leurs relations avec l'être qu'elles habitent ressemble beaucoup à une véritable *symbiose* dont les soi-disant « maître » et « hôte » tirent tous deux profit. Certes, je ne peux pas dire quelle est la nature du profit que le puceron tire des bacilles, mais ce profit me semble évident, et peut-être l'existence de cet organe problématique du *pseudovitellus* est due à la présence des bacilles avec lesquels il est en corrélation. Dans tous les cas, leur vie dans des tissus normaux et sains, leur innocuité complète pour l'organisme du « maître », leur mode de propagation directe d'une génération à l'autre, et enfin leur présence constante dans tous les représentants de l'espèce, y compris les embryons, voilà les marques caractéristiques par lesquelles les bactéries biophytes se distinguent des autres bactéries.

Une observation, et notamment l'étude des pucerons n° 20, nous a montré que même les bactéries vivant dans le tractus intestinal peuvent avoir le caractère biophyte, bien qu'en général le tractus, grâce à ses communications libres avec le monde extérieur, héberge d'ordinaire des bactéries saprophytes et parfois aussi pathogènes. Comme nous l'avons mentionné ci-dessus, le tractus intestinal des pucerons n° 20 regorge toujours de tout petits bacilles. Si l'on examine les *embryons* plus âgés du même puceron possédant déjà un intestin, on trouve dans ce dernier les mêmes bacilles que dans l'intestin de la mère.

J'ai dit que dans les pucerons n°s 1 à 12, il m'avait été impossible de trouver n'importe quelles bactéries. Mais je n'en conclus pas que les bactéries biophytes y manquent en réalité. Je pense que les bactéries biophytes sont très répandues chez les insectes et peut-être chez les animaux en général. Ces microbes

ont probablement des dimensions très variables, et si je n'en ai pas découvert dans les pucerons indiqués, c'est peut-être que ces microbes sont trop petits pour être visibles avec des grossissements moyens. Pour trancher cette question j'ai essayé de trouver un mode de coloration des ces microbes permettant de les examiner dans les tissus avec de forts grossissements.

J'ai essayé tous les procédés connus et opéré sur des pucerons (n°s 13 et 15) dont les bactéries (biophytes) étaient bien visibles sans coloration. Je n'ai pas réussi à colorer ces bactéries. La difficulté de cette coloration différentielle vient de ce que les tissus sains et vigoureux du puceron, et encore plus ceux de l'embryon, ont beaucoup plus d'affinité pour des matières colorantes que les bactéries qu'ils hébergent. On peut s'en convaincre directement sous le microscope en ajoutant un peu de matière colorante sous le couvre-objet. Ainsi mon opinion sur la présence des bactéries biophytes chez les pucerons n°s 1 à 12 doit rester pour le moment sans preuve.

J'ai réussi à obtenir des cultures pures des bacilles de quelques pucerons, mais je parlerai de ces cultures dans une autre note.

En finissant cet article, que je regarde comme une communication préliminaire, je voudrais appeler l'attention des explorateurs sur le secours que pourraient tirer des faits qui précèdent, les études sur la présence des microbes dans les tissus sains et normaux de l'homme et des animaux supérieurs.

SUR LE DOSAGE DE LA SUCRASE

Par M. A. FERNBACH.

Dans presque tous les travaux faits sur les diastases, parmi lesquels je citerai, ceux de M. Kjeldahl sur la formation de l'amylase pendant la germination de l'orge[1], et de M. Dubourg sur l'amylase de l'urine[2], on s'est contenté d'apprécier les proportions relatives de la diastase étudiée, mais on n'a point cherché, à ma connaissance, à faire de mesure précise des quantités de diastase produites par diverses cellules. Cependant le rôle des diastases et des phénomènes qu'elles provoquent devient de jour en jour plus grand, surtout depuis que les recherches de MM. Roux et Yersin nous ont appris qu'il peut y avoir des diastases pathogènes. Aussi ne peut-on plus se contenter de mentions approximatives de quantités; on conçoit l'importance qu'il y aurait à pouvoir mesurer avec précision la marche de la sécrétion d'une diastase par un microbe aux différentes périodes de son développement, et à étudier toutes les influences que l'action de cette diastase peut subir.

Ce problème peut-il être résolu, même partiellement? C'est là une question à laquelle il est difficile de répondre dans l'état actuel de nos connaissances. Ce que je voudrais simplement montrer dans la présente note, c'est que la solution du problème dépend d'un certain nombre de conditions dont l'importance a été méconnue de la plupart des expérimentateurs, et que de là résulte qu'on peut conserver quelques doutes non pas, peut-être, sur leurs conclusions générales, mais sur certains faits

1. *Medelelser fra Carlsberg Laboratoriet*, 1879.
2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889, p. 304.

particuliers assez nombreux pour exiger, à ce point de vue, une sorte de revision de la science.

Étant donnée l'impossibilité d'isoler les diastases à l'état de pureté, la seule méthode de dosage qui ait été employée, la seule qu'on puisse mettre en œuvre, consiste à faire agir le liquide diastasifère sur la matière qu'il est capable de transformer; dosant ensuite la quantité de matière transformée, on prend le nombre trouvé pour mesure de la quantité de diastase. Mais pour que les nombres ainsi obtenus soient comparables, il faut que les expériences aient été faites dans des conditions absolument identiques, et c'est précisément cette identité qui est difficile à réaliser. En effet, en dehors d'un certain nombre de conditions extérieures, telles que la température, la durée de l'action du liquide diastasifère, dont nous sommes maîtres dans une certaine mesure, il y en a d'autres beaucoup plus délicates, il y en a même probablement d'insaisissables, les diastases qui agissent sous des poids infiniment petits paraissant pouvoir subir l'influence de matériaux présents en proportion infinitésimale dans la liqueur.

Parmi ces influences, celle de l'acidité et de l'alcalinité, et celle de la lumière et de l'oxygène m'ont paru être à la fois des plus délicates et des plus commodes à étudier. La première a déjà été signalée à propos de l'amylase par M. Kjeldahl, qui a montré que des variations faibles dans la réaction acide ou alcaline de l'extrait de malt introduisent des variations notables dans l'activité avec laquelle ce liquide peut transformer l'amidon; la seconde a été mise en évidence par M. Duclaux, et plus récemment par MM. Roux et Yersin.

I. — *Mode de préparation de la sucrase.*

Je me suis adressé pour cette étude à la sucrase, qu'il est facile de se procurer rapidement en quantité notable; de plus son action sur le saccharose est relativement simple, et le sucre interverti produit peut être dosé avec une précision suffisante au moyen de la liqueur de Fehling. Pour se procurer la sucrase, il suffit, comme l'a indiqué M. Duclaux dans sa microbiologie, de remplacer le liquide de culture de l'*Aspergillus Niger* arrivé au terme de son développement par de l'eau sucrée ou même de

l'eau pure; au bout de 48 heures environ, on a un liquide actif qui présente cet avantage de ne renfermer, en dehors de la sucrase, qu'une quantité très faible de matériaux en solution, environ 1 décigramme par litre. Cette sécrétion de sucrase est accompagnée de phénomènes intéressants sur lesquels je compte revenir prochainement.

Ce liquide, qui s'altère rapidement par suite de l'invasion des infiniment petits, si on l'abandonne à lui-même, peut être conservé pendant plusieurs jours si on prend soin de l'additionner d'une trace d'essence de moutarde, procédé qui a déjà été employé par M. Roux pour la conservation des diastases; cette essence n'a aucune influence sur l'action de la sucrase.

Un autre procédé, qui permet d'avoir un liquide tout à fait exempt d'organismes étrangers, consiste à cultiver l'*Aspergillus* en liquide Raulin stérilisé, dans des fioles à tubulure latérale effilée, à fond très plat et à col droit; lorsque la plante est en pleine fructification, on décante le liquide par l'effilure, et on le remplace par de l'eau distillée stérile, après avoir lavé la face inférieure de la mucédinée avec de l'eau également stérile. Le maximum d'activité du liquide correspond à peu près au moment où, d'abord jaune verdâtre, il commence à virer du vert au brun clair.

Le procédé de filtration à travers la porcelaine, si précieux pour la stérilisation des liquides, ne conduit dans le cas présent à aucun résultat : plusieurs essais de filtration, faits dans des conditions variées, m'ont montré qu'avec le liquide provenant de l'*Aspergillus*, la matière active est presque intégralement retenue par le filtre.

II. — *Influence de variations faibles de la réaction du liquide diastasifère sur l'interversion du sucre.*

Nous voilà en possession d'un liquide avec lequel nous pouvons essayer des interversions de saccharose. J'ai toujours opéré dans des tubes larges, placés pendant 1 heure dans un bain-marie réglé à 56°, température d'optimum d'action de la sucrase. J'ai choisi la température de 56°, parce qu'au voisinage du maximum de faibles variations, impossibles d'ailleurs à éviter, dans la température, ne se traduisent que par des variations insigni-

fiantes dans l'action de la sucrase ; j'ai choisi pour la durée de l'interversion 1 heure, parce que, si on la prolonge davantage, les phénomènes d'oxydation dont je parlerai plus loin peuvent intervenir et troubler les résultats.

Le volume de liquide renfermé dans mes tubes était toujours de 10^{cc} que j'amenais après l'expérience à 20^{cc} avec les eaux de lavage. Le liquide sucré sur lequel je faisais agir la sucrase était une solution de saccharose à 40 ou 50 0/0, ne réduisant pas la liqueur de Fehling. Au sortir du bain-marie, les tubes étaient refroidis rapidement et additionnés d'un léger excès de potasse, de manière à arrêter toute action. J'ajouterai enfin que lorsque j'ai dû prolonger mes expériences pendant plus de 3 ou 4 heures, j'ai toujours opéré avec des liquides stériles, placés dans des conditions qui ne permettaient pas l'intervention des microbes.

Un premier fait facile à constater, c'est que le liquide à sucrase obtenu comme je viens de le dire apporte toujours avec lui une certaine acidité due à l'acide oxalique produit par l'*Aspergillus;* cette acidité est souvent très faible, mais le liquide supporte toujours l'addition de quantités mesurables de soude étendue avant d'arriver à bleuir le papier de tournesol rouge. J'ai toujours fait usage d'un papier que j'avais reconnu préalablement pouvoir déceler nettement $\frac{1}{50\,000}$ de soude.

Les expériences qui suivent montrent que la quantité de sucre interverti par une même dose de liquide à sucrase, à peine acide, va en diminuant à mesure que la quantité de soude présente va en augmentant, bien que cette augmentation de la soude se fasse par degrés si faibles qu'ils n'amènent aucun changement de teinte dans les papiers les plus sensibles ; elles font voir que dans les limites où existe ce que nous appelons la neutralité au point de vue des papiers colorés, la sucrase est encore très sensible à des variations qu'aucun réactif ne pourrait accuser.

Expérience I. — Huit tubes, renfermant chacun 2^{cc} de liquide à sucrase, sont additionnés de quantités croissantes de soude à $\frac{1}{15\,000}$, et le volume est amené à 10^{cc} avec de l'eau et de l'eau sucrée. Voici les quantités de sucre interverti au bout de 1 heure à 56°.

Nos d'ordre des expériences	Soude ajoutée en c. c.	Proportion correspondante de soude, en millionièmes.	Sucre interverti en centigrammes.
1	0	0	35,1
2	0,5	3,3	31,8
3	1	6,6	25,4
4	1,5	9,9	17,6
5	2	13	12,1
6	2,5	16	7,1
7	3	19	5,3
8	3,5	23	3,9

Jusqu'à l'essai 4, le liquide est sensiblement acide; à partir de l'essai 7, la réaction est faiblement alcaline.

Expérience II. — Les conditions sont les mêmes que dans l'expérience précédente.

1	0	0	35,1
2	1	10	16,7
3	2	20	6,8
4	2,5	25	3,9
5	3	30	3,0
6	3,5	35	2,2

Ici, j'ai employé de la soude à $\frac{1}{10\,000}$; dans les essais 1 et 2, la réaction du liquide était sensiblement acide; à partir de l'essai 4, elle était alcaline.

Expérience III. — Je prépare deux liquides, A et B, renfermant 40^{cc} d'un même liquide à sucrase; A renferme 4^{cc} de soude à $\frac{1}{1\,000}$; B, 2^{cc}. Chacun de ces mélanges a été amené à 50^{cc} avec de l'eau distillée. B est neutre au papier, (c'est ainsi que nous entendrons à l'avenir la mention *neutre*); A est légèrement alcalin; ils ont été respectivement additionnés de 20 et de 40 millionièmes de soude.

5^{cc}, additionnés de 5^{cc} de saccharose à 50 0/0, ont donné au bout de 1 heure à 56° :

A	40,7	centigr. de sucre	interverti.
B	66,6	id.	id.

Ce ralentissement considérable de l'interversion lorsque le milieu est alcalin est-il dû à la réaction du milieu, ou à une altération de la sucrase, facilitée par cette réaction? Les expériences que je rapporterai plus loin, quand j'étudierai les phé-

nomènes d'oxydation, semblent montrer que c'est cette deuxième explication qu'il faut accepter.

Nous pouvons tirer des faits qui précèdent une première conclusion : c'est que des quantités de diastase identiques peuvent fort bien, lorsqu'on les place dans des conditions identiques *en apparence*, intervertir des quantités de sucre très différentes, et que, inversement, des chiffres identiques peuvent être fournis par des quantités de diastase très différentes. Nous pouvons de plus y trouver l'explication de certains faits que je ne veux que signaler en passant.

Si l'on prépare un liquide à sucrase avec une culture d'*Aspergillus* faite sans précautions dans une cuvette de porcelaine, et qu'on abandonne à lui-même le liquide obtenu, son activité va d'abord en croissant. Il se peuple, comme je l'ai dit plus haut, de microbes qui vivent de préférence à la surface, et augmentent l'acidité du liquide ; cette augmentation d'acidité, si faible qu'elle soit, suffit cependant pour que la richesse du liquide en sucrase semble avoir augmenté ; les faits signalés tout à l'heure nous en donnent l'explication.

On sait aussi que la sucrase agit, comme les autres diastases, proportionnellement à sa quantité et à la durée de l'action, au moins dans des limites sur lesquelles M. Duclaux a insisté dans sa microbiologie. Je mettrai tout à l'heure en lumière une cause de non proportionnalité au temps ; pour ce qui est de la proportionnalité à la quantité, elle n'existe et on ne peut l'observer qu'avec des liquides à sucrase qui se trouvent par hasard neutres ou très voisins de la neutralité ; pour peu que le liquide s'écarte de la neutralité, on conçoit qu'en en prenant des quantités croissantes, on introduit dans les expériences d'interversion des quantités croissantes d'acide ou d'alcali qui empêchent la proportionnalité d'être exacte. Je dois dire cependant, sans qu'il soit pour cela nécessaire d'entrer dans des détails expérimentaux qui m'entraîneraient trop loin, que l'excès d'alcali semble avoir à ce point de vue une influence beaucoup plus considérable que l'excès d'acide ; on retrouve beaucoup plus facilement des nombres proportionnels en opérant avec un liquide faiblement acide qu'avec un liquide alcalin, sans doute parce que dans le second cas les phénomènes d'oxydation, que je vais exposer maintenant, ont une action de plus en plus efficace à mesure que l'alcalinité croît.

III. — *Oxydation de la sucrase; sa destruction par la chaleur.*

On admet généralement que les diastases sont des matières éminemment oxydables, et plus oxydables en milieu alcalin qu'en milieu neutre ou acide. C'est là une opinion d'ordre général qui, je me hâte de le dire, est en partie exacte pour la sucrase, et qui résulte de faits épars recueillis par divers expérimentateurs, sans qu'on ait jamais fait d'expériences directes destinées à le démontrer. Nous allons voir apparaître dans les phénomènes d'oxydation de la sucrase les mêmes influences, bien qu'un peu moins accentuées, de variations faibles dans la réaction du liquide diastasifère.

Expérience I. — Voici tout d'abord une expérience qui montre que la sucrase s'oxyde en milieu neutre ou voisin de la neutralité.

Les liquides qui m'ont servi sont les mélanges A et B, mentionnés plus haut dans ma 3e expérience. A, je le rappelle, est légèrement alcalin, B est neutre; 5^{cc} de ces liquides intervertissent respectivement, en 1 heure, à 56°, 40^{ctg},7 et 66,6 de sucre. Quatre tubes renfermant chacun 5^{cc} de A, quatre autres renfermant 5^{cc} de B, sont mis au bain-marie, à 56°. Toutes les heures, je mets dans un tube de chaque série 5^{cc} d'eau sucrée et je dose le sucre interverti après 1 heure. Je trouve les nombres suivants, le numéro d'ordre de chaque expérience indiquant le temps pendant lequel chaque tube est resté à 56° avant d'avoir été mis en contact avec le saccharose.

	A	B
1	38,6	66,6
2	34,1	62
3	32,7	61,3
4	29,3	60
Diminution totale en 4 h.	11,4	6,6

On voit qu'avec le liquide le plus alcalin, l'oxydation commence plus tôt et qu'elle est plus énergique qu'avec le liquide neutre. Ici apparaît la cause de non proportionnalité à laquelle je faisais allusion plus haut.

Expérience II. — L'oxygène est bien la cause de la diminution d'activité de ces liquides. Voici en effet une expérience dans

laquelle un liquide neutre, dont 1^cc donnait, au bout de 1 heure à 56°, 25^ctg,4 de sucre interverti, a été chauffé pendant 6 heures à 56°, d'une part dans un tube ouvert, de l'autre dans un tube scellé, vide d'air. Au bout de ce temps, une expérience d'interversion a donné :

	Centigr.
Tube vide d'air.	25,4
Tube ouvert.	19,8

Il faut cependant ajouter que l'action plus prolongée d'une température de 56°, même en l'absence d'air, eût amené une diminution dans l'activité du liquide, ce qui n'a pas lieu d'étonner, si l'on songe que la sucrase est détruite vers 70°, température qui n'est pas de beaucoup supérieure à la température d'optimum d'action, 56°. Ainsi, le liquide précédent, chauffé pendant 24 heures à 56°, dans le vide, n'a plus donné au bout de ce temps, dans les mêmes conditions que plus haut, que 18^ctg,7 de sucre interverti. Concluons donc qu'à cette température, lorsque l'action est prolongée au delà de 5 à 6 heures, à la diminution d'activité du liquide par oxydation vient se superposer celle qui est due à l'action de la chaleur.

Cette action de la chaleur, à l'exclusion de celle de l'oxygène, mérite de nous arrêter un instant, parce qu'elle dépend, elle aussi, de la réaction du milieu.

Mais ici se présente une difficulté. Nous n'avons jusqu'à présent opéré qu'avec des volumes égaux d'un même liquide diastasifère; les nombres obtenus étaient comparables parce que l'identité des conditions d'expérience se trouvait réalisée. Il n'en sera plus de même si, composant avec les mêmes doses d'un même liquide diastasifère des mélanges neutres, acides ou alcalins, nous les soumettons à une cause de destruction que nous voulons montrer agir inégalement sur ces mélanges. Si l'on se reporte aux premières expériences de ce travail, on verra que des volumes égaux de ces liquides ne peuvent plus donner des chiffres identiques à l'origine, bien qu'ils renferment des quantités de diastase identiques, parce qu'il y aura entre eux des différences de réaction.

Voici comment j'ai tourné cette difficulté. Dans une étude non encore complètement terminée sur l'influence de doses

croissantes des divers acides organiques ou minéraux sur l'interversion du sucre par la sucrase, j'ai observé que, à mesure que les doses d'un même acide vont en croissant, l'effet va en s'accélérant, puis en diminuant, de telle sorte que pour chaque acide il y a une dose dont l'effet est maximum. Pour l'acide acétique en particulier cette dose d'effet maximun est de $\frac{1}{100}$. De plus, de petites variations dans la quantité d'acide employé de part et d'autre du chiffre maximum n'introduisent pas de variation appréciable dans la quantité de sucre interverti.

J'ai donc opéré toutes les interversions dont il va être question en présence de $\frac{1}{100}$ d'acide acétique. Devant cette dose, l'alcalinité ou l'acidité faible qu'apporte le liquide diastasifère disparaît, comme on le verra, absolument, et des liquides qui, employés tels quels, conduiraient, comme ceux des premières expériences de ce mémoire, aux chiffres les plus différents, fournissent des quantités de sucre interverti identiques. Je me suis arrêté à l'emploi de l'acide acétique pour plusieurs raisons. D'abord la dose de $\frac{1}{100}$ est assez considérable pour pouvoir être mesurée avec exactitude; de plus, à la température de 56°, l'acide à ce degré de concentration ne prend qu'une faible part à l'interversion du saccharose; il en intervertit pour sa part 5 centigrammes, dans les conditions où j'ai opéré, et c'est là une quantité relativement faible si on la compare à celle que la sucrase intervertit en subissant l'influence de l'acide.

Nous voilà donc en possession d'une méthode qui nous permet de réaliser les conditions d'identité dont je parlais en commençant, identité vérifiée expérimentalement comme on va le voir. Revenons à l'action d'une température de 56° sur la sucrase, en l'absence d'oxygène. Tous les chiffres qui suivent représentent en centigrammes la quantité de sucre interverti trouvée, diminuée des 5 centigrammes relatifs à l'interversion par l'acide acétique.

Expérience III. — Je prends des volumes égaux d'un liquide diastasifère très faiblement acide, et je fais trois mélanges A, B, C, amenés au même volume, et renfermant : A, $\frac{1}{5000}$ d'acide acétique; B, le liquide laissé tel quel ; C, $\frac{1}{11000}$ de soude. 1 centimètre cube de chacun de ces liquides, en présence de 1 0/0 d'acide

acétique, donne, comme je l'annonçais, un seul et même chiffre, 13,6 de sucre interverti. Je chauffe ces liquides dans des tubes vides d'air à 56°, pendant 24 heures. Au bout de ce temps ils me donnent les résultats suivants :

A	B	C
10,6	6,6	2,9

On voit que le liquide acide a mieux résisté que les deux autres, le liquide neutre un peu mieux que le liquide alcalin.

Pour éviter cette superposition possible de l'action de la chaleur à celle de l'oxygène, nous sommes naturellement conduit à étudier l'oxydation à température plus basse. Les expériences qui suivent ont été faites à la température de 35°. Pour faciliter l'oxydation, j'ai placé le liquide diastasifère par portions de 10^{cc} dans les fioles à courant d'air qui ont déjà été décrites et figurées dans ces *Annales* (t. I, p. 386). Le liquide y occupait à peine un millimètre en épaisseur ; il était amené après l'expérience à 20^{cc} avec les eaux de lavage de la fiole, et alors on en employait pour les essais d'interversion un volume double du volume employé pour l'essai précédant l'expérience.

Expérience IV. — Des liquides, préparés comme ceux de l'expérience précédente, qui donnaient le chiffre 18, ont fourni au bout de 20 heures les résultats suivants :

A	B	C
18	17,5	16,9

L'oxydation a donc été presque insignifiante. J'ai recommencé l'expérience en la prolongeant pendant 48 heures.

Expérience V. — J'ai préparé cinq mélanges renfermant les doses suivantes d'acide ou d'alcali, en millionièmes :

A renferme 420 d'acide acétique.
B — 270 — —
C neutre.
D renferme 75 de soude.
E — 150 —

Ces liquides qui, avant l'expérience, donnaient tous le chiffre 18, donnent après 48 heures d'aération à 35° :

A	B	C	D	E
18	18	17	14,6	10,6

On voit qu'un liquide acide et même neutre résiste au contact prolongé de l'oxygène ; qu'un liquide alcalin s'oxyde au contraire, et d'autant plus énergiquement qu'il est plus alcalin, fait que nous avons déjà constaté à 56°, et qui se confirme ici une fois de plus.

Si l'on dépasse tant soit peu les doses d'alcalinité indiquées plus haut, l'oxydation s'exagère immédiatement, même à la température ordinaire. En voici un exemple :

Expérience VI. — Trois liquides préparés comme précédemment renferment :

A 400 millionièmes d'acide acétique.
B neutre.
C 200 millionièmes de soude.

Tous trois donnent le chiffre 21. Abandonnés pendant 16 heures en couche mince, à la température ordinaire, ils fournissent les chiffres suivants :

A	B	C
21	21	17,4

Deux heures plus tard, C n'est plus représenté que par 15,9.

Ainsi l'oxydation, nulle pour un liquide acide à température relativement basse, peu active, en somme, pour un liquide neutre ou faiblement alcalin, s'accélère considérablement dès que l'alcalinité atteint $\frac{1}{5000}$ de soude. Nous voyons une fois de plus combien il faut de précision dans l'étude de ces phénomènes d'oxydation, et quelle importance a la réaction du liquide diastasifère.

IV. — *Action de la lumière sur la sucrase.*

Jusqu'ici, nous avons fait nos essais à l'obscurité. Nous allons voir le phénomène d'oxydation changer absolument de face si nous faisons intervenir la lumière, et nous présenter toute une série de faits intéressants.

Tout d'abord, *la lumière solaire n'a aucune action sur la sucrase dans le vide,* quelle que soit la réaction du milieu. J'ai pu laisser des tubes exposés au soleil pendant le mois d'août tout entier, sans avoir vu leur activité diminuer. Une constatation analogue avait été faite par M. Roux pour le poison de la diphtérie, sans que cependant l'expérience eût été prolongée pendant aussi longtemps.

Des tubes semblables à ceux de l'expérience précédente, mais ouverts, renfermant les liquides A, B, C du chapitre précédent (exp. III), qui donnent le chiffre 13,6. nous fournissent après l'insolation les résultats suivants :

Durée de l'insolation.	A (acide.)	B (neutre).	C (alcalin.)
2 h. 30	5,4	8,8	9,2
4 h.	3,7	6,6	7,4

Remarquons que cette expérience, faite avec des tubes étroits, ne permet le contact de l'air que par une surface restreinte. Plaçons des volumes égaux des liquides A et B de l'expérience IV du chapitre précédent dans des matras Pasteur. Avant l'expérience, ces deux liquides donnent le chiffre 18 ; après 3 heures d'insolation, je trouve :

A (acide.)	B (neutre.)
10,8	12,7

De même, avec les liquides A et B de l'expérience VI, qui donnaient 21, je trouve après 3 heures d'insolation :

A (acide).	B (neutre).
5,2	13

Je pourrais multiplier les exemples ; mais ceux qui précèdent me paraissent démontrer suffisamment que l'*acidité qui conférait à la sucrase une résistance considérable à l'oxydation à l'obscurité, facilite au contraire l'oxydation à la lumière.* Remarquons toutefois qu'en milieu alcalin ou neutre, l'oxydation se produit aussi, mais bien moins énergiquement.

Ici nous rencontrons un fait nouveau qui mérite aussi de nous arrêter un instant. Dans les phénomènes chimiques ordinaires, où interviennent des quantités notables de réactifs et qui se produisent dans un espace de temps relativement court, nous voyons, dans une même classe de réactifs agissant tous de la même manière. chacun avoir son activité propre. Il n'en est plus de même dans le phénomène qui nous occupe ; c'est l'acidité du milieu qui favorise l'action de la lumière sur la sucrase, et non la nature de l'acide employé. Voici une expérience qui le prouve.

J'ai préparé des liquides identiques, l'un neutre, les autres renfermant $\frac{1}{20000}$ de divers acides. Tous ces liquides donnaient avant l'expérience le chiffre 18,4. Après 2 heures 1/2 d'insolation, j'ai trouvé les chiffres suivants :

Liquide neutre			14,4
Liquides renfermant $\frac{1}{20000}$ des acides	sulfurique	}	14,1
	tartrique		
	oxalique		
	acétique		
	succinique		

Donc l'action est la même, quel que soit l'acide, et ne dépend nullement de l'activité spécifique de chacun d'eux, ou de la facilité plus ou moins grande avec laquelle il peut lui-même s'oxyder au soleil.

Au point de vue pratique, une conclusion résulte des faits qui viennent d'être exposés. Lorsqu'on voudra faire une série d'expériences avec un même liquide à sucrase, il suffira pour le conserver presque indéfiniment de l'avoir produit dans les conditions de pureté que j'ai décrites, et de l'enfermer dans des tubes stériles qu'on scellera vides d'air.

En somme les trois agents que je viens d'étudier, chaleur, oxygène, lumière, sont des agents de destruction de la sucrase sur lesquels il faut avoir l'œil toujours fixé dans ces études délicates. Aucun d'eux n'agit bien énergiquement, à moins que son action ne soit longuement prolongée, si on le fait agir à l'exclusion des autres ; mais en combinant et en superposant leurs influences, ils peuvent conduire à des erreurs notables.

De tous les faits qui précèdent nous pouvons, au point de vue de nos connaissances sur les diastases, tirer la conclusion générale suivante. L'action d'une diastase est influencée par des causes infiniment petites, le plus souvent impossibles à mesurer ; elle nous apparaît comme une fonction complexe des conditions dans lesquelles elle se produit, si bien qu'une diastase peut être présente sans amener aucune transformation chimique. Nous ne pouvons malheureusement étudier la diastase qu'en dehors de la cellule qui la sécrète, mais nous concevons l'importance que sa variabilité d'action peut avoir au point de vue de la vie intracellulaire, puisqu'elle peut trouver, pour des changements très faibles dans la réaction du protoplasma, des conditions qui tantôt exagèrent son action, tantôt l'annihilent, qui lui permettent de résister aux agents chimiques et physiques de sa desruction ou qui augmentent au contraire sa fragilité.

REVUES ET ANALYSES

W. Kastner. — Études expérimentales sur le caractère infectieux de la viande d'animaux tuberculeux. *Münch. med Wochenschr.*, n° 34, 1889.

Il est peu de questions plus controversées que celle de la nocuité ou de l'innocuité de la chair d'animaux tuberculeux. Par quelque point qu'on l'aborde, on la trouve encombrée de résultats contradictoires, entre lesquels il est fort embarrassant de choisir, parce qu'ils sont probablement tous exacts, mais qu'ils dépendent de conditions que n'a pas mises en lumière le travail qui les a produits, de sorte qu'en recommençant ce travail, on ne trouve plus les mêmes résultats. S'agit-il par exemple de la contagion par les voies digestives, et du danger que peut présenter la consommation de la viande d'animaux tuberculeux, on voit MM. Chauveau, Peuch, Gerlach [1], Gunther et Arms [2], l'école vétérinaire de Dresde [3] donner sinon à coup sûr, du moins très souvent la tuberculose à des animaux nourris soit avec des viandes, soit avec des masses tuberculeuses, tandis que d'un autre côté MM. Colin, Chatin, Nocard, Semmer [4], Moller [5] et d'autres ne sont arrivés qu'à des résultats négatifs. Qui croire? Sans doute on peut relever, d'une manière générale, dans cet ensemble de documents, des causes de contradiction. Ainsi, les animaux mis en expérience n'ont pas toujours été les mêmes : on s'est adressé au veau, au porc, au chien, au lapin, etc. Or, toutes ces espèces ne digèrent pas de la même façon, et il est

1. La transmissibilité de la tuberculose par l'inoculation et la nutrition.

2. Recherches sur la tuberculose. *Magazin f. d. Thierheilkunde.*

3. Recherches sur la transmissibilité de la tuberculose. *Ber. ueber d. Veterinärwesen i. K. Sachsen.* 1870.

4. Recherches sur la transmission de la tuberculose. *Dorpater med. Zeitschr.*, t. VI, et *Revue d. Thierheilk.*, n° 2.

5. Sur l'étiologie de la tuberculose. *Zeitschr. f. prakt. Veterinärwissensch.*, 2e année, n° 7.

imprudent de conclure de la digestion de l'une à la digestion de l'autre. De plus, elles ne sont pas toutes également sensibles à la tuberculose, et si par hasard quelqu'un ajoutait plus de confiance aux cas où les expériences ont conclu à la transmission de la tuberculose qu'à d'autres, sous prétexte que les résultats positifs pèsent d'un plus grand poids que les résultats négatifs, on pourrait répondre que pour quelques-uns au moins de ces résultats positifs, il y a à se demander si la tuberculose qu'on a constatée était réellement acquise à la suite de l'ingestion de repas tuberculeux, et non pas seulement congénitale, ou venue par d'autres voies.

Une autre objection vient à l'esprit. Tant que M. Koch n'a pas eu découvert le bacille de la tuberculose et étudié sa localisation dans les tissus, le mot viande d'animaux tuberculeux avait un sens général qui ne représente plus rien aujourd'hui, où nous savons que l'élément contagieux, le bacille, est surtout localisé dans les tubercules, qu'il est rare ou absent dans le sang, et, sauf quelques cas, n'habite pas du tout toutes les parties de l'animal qu'il a tué. Sans doute les savants qui ont étudié ce sujet avaient dû faire et ont fait en effet une distinction entre les organes criblés de tubercules et les organes d'apparence saine qu'ils donnaient à leurs animaux, et il est probable que s'il ne s'était agi que de résoudre une question de science pure, ils auraient tous servi à ces animaux des repas de nodules tuberculeux, ce qui aurait rendu leurs expériences comparables, au moins à ce point de vue. Mais ces essais n'eussent servi à rien pour élucider la question d'hygiène et de police vétérinaire qui intéressait la plupart des expérimentateurs, savoir si la santé publique courait quelques dangers par suite de la consommation de la viande d'animaux tuberculeux. On ne vend pas et le public n'accepterait pas d'ordinaire les morceaux notoirement contaminés, et, dès lors, ce sont les morceaux qu'il accepte, c'est-à-dire les portions saines d'apparence qu'on a dû servir aux animaux d'expérience, pour savoir s'ils en éprouvaient quelque péril. Or ces morceaux pouvaient ou non contenir des ganglions tuberculeux, par exemple, que rien ne distingue quelquefois, à l'œil nu, de ganglions sains. On voit tout de suite l'influence de l'incertitude des données sur l'incertitude des résultats.

Après la découverte de Koch, la question a pu entrer dans une voie nouvelle, où ses pas étaient mieux assurés. Le côté qu'on en a le plus étudié, c'est la contagion par le lait, qui mérite une étude à part, que nous ferons prochainement. Essayons pour aujourd'hui de débrouiller quelques-unes des influences qui jouent un rôle dans le mécanisme de la transmission de la tuberculose par la viande de boucherie.

La contagion par la viande n'a été étudiée à notre connaissance

depuis la découverte de M. Koch que par Saur [1] et Wesener [2]. Les résultats de Saur sont tous négatifs. Le travail de Wesener est plus suggestif. Il montre d'abord que l'ingestion de viande de bœuf tuberculeuse ne produit pas les mêmes effets sur les diverses espèces animales. Ainsi les porcs contractent la tuberculose dans la moitié des cas environ, les lapins très rarement, les chiens plus rarement encore. Peut-être en serait-il autrement, bien que Wesener ne vise pas ce sujet, avec des tubercules d'une autre provenance. Nous allons tout à l'heure trouver un argument qui plaide dans ce sens; mais bornons-nous aux conclusions de Wesener. Nous voilà avertis de l'influence de l'espèce. Maintenant l'influence de l'espèce entre-t-elle seule en jeu? Non, car dans l'espèce la plus sensible, le porc, il y a encore la moitié des animaux qui échappent à la contagion. La question de la transmission de la tuberculose par la viande semble donc n'avoir pas de solution générale; elle paraît se résoudre en un certain nombre de cas particuliers, individuels pour ainsi dire.

Mais cette conclusion est extra-scientifique; elle représente une abdication. C'est la loi de ces faits prétendus individuels qu'il faut trouver, et, en cherchant dans cet ordre d'idées, on est amené tout de suite à se demander si c'est un procédé bien sûr que de faire passer par le canal digestif les matériaux dont on veut étudier la nocuité ou l'innocuité. On introduit évidemment par là un élément de variabilité dont l'intervention menace de nous laisser constamment dans l'incertitude sur une question où le proverbe : dans le doute abstiens-toi! est hors de saison, car il y a des milliers d'animaux tuberculeux abattus tous les ans, et il faut y regarder à deux fois avant de proscrire l'emploi de toute cette viande.

Une voie s'offre à nous. Il n'y a pas de contagion possible, même par la nourriture, s'il n'y a pas d'éléments contagieux. Les diverses techniques de coloration nous apprennent bien que les bacilles de Koch sont extrêmement rares dans les muscles et dans le sang, mais il pourrait y avoir des spores que le microscope ne permet pas de reconnaître. Pour être renseigné d'une façon plus sûre, il n'y a qu'à inoculer à des animaux susceptibles, et aux endroits d'élection, par exemple dans le péritoine des cobayes, du suc de viande tuberculeuse, et à voir s'il en résulte une tuberculose.

C'est ce qu'avaient fait Villemin, Toussaint, Toussaint et Peuch; c'est ce que vient de refaire, avec plus de soin et de méthode,

1. La viande d'animaux tuberculeux comme nourriture pour les animaux sauvages. *Thier. Deutsch. Zeitschr. f. Medicin*, t. III.

2. Contribution critique et expérimentale à l'étude de la tuberculose de nutrition. Fribourg-en-Brisg. 1885.

M. Kastner sous l'inspiration de M. Bollinger. Sur des animaux reconnus tuberculeux à l'abattoir, il prélevait environ 1 kilo de viande sans os, prise en divers points de l'animal et avec toutes les précautions nécessaires pour qu'il n'y eût pas contamination pendant l'opération; il en extrayait le suc en la coupant en petits morceaux et en la soumettant à l'action d'une presse. Ce jus recueilli purement, et en volume d'environ 50^{cc}, était inoculé, sous le volume de 1^{cc}, sous le péritoine de cobayes, animaux très rarement tuberculeux et très sensibles pourtant aux inoculations tuberculeuses. On ferait volontiers à ces expériences le reproche que le volume de liquide inoculé était bien faible. Il eût été facile de faire absorber à la masse péritonéale de ces petits animaux des masses de suc bien plus considérables, voire les 50^{cc} provenant de l'expression de 1 kilogramme de viande, et les résultats n'en eussent été que plus démonstratifs. L'opération semble, d'ailleurs, avoir été bien faite, car aucun des animaux n'a souffert, à la suite, d'inflammation ou de septicémie. Aucun n'a présenté de maladie intercurrente pendant la période de l'observation, ce qui prouve qu'ils étaient bien tenus et bien nourris. Ils ont été tués au plus tôt 8 semaines après le jour de l'inoculation.

Les résultats sont les suivants : sur 16 animaux ayant reçu le suc musculaire de 12 animaux de boucherie malades de tuberculose, aucun n'a contracté la maladie. En aurait-il été de même, si l'animal immolé avait présenté une tuberculose miliaire, dans laquelle le bacille est présent dans tous les tissus? Il est impossible de le dire, cette forme de la tuberculose étant extrêmement rare chez le bœuf; mais dans les circonstances ordinaires, même avec des volumes de viande qui impliquent nécessairement la présence de quelques ganglions, les dangers de contagion se sont révélés, dans les essais de M. Kastner, comme très faibles.

Restons encore un peu, pendant que nous y sommes, sur le terrain purement scientifique, et admettons pour un instant que les dangers de la contagion par la viande de bœuf ou de vache soient nuls. Peut-on à priori étendre cette formule à d'autres espèces. Ce que nous savons de la virulence variable d'un même microbe suivant son milieu d'habitat suffirait pour nous en empêcher : mais nous avons à citer un fait bien curieux. Un autre élève de M. Bollinger, M. F. Steinheil, a recommencé les essais de M. Kastner avec la chair de tuberculeux morts dans les hôpitaux, et a constamment, à l'inverse de son prédécesseur, tuberculisé ses cobayes. Nous retrouvons là la question d'espèce. Concluons donc que le problème est plus compliqué que ne le croyaient les premiers qui l'ont abordé, qu'il faut pour l'étudier pénétrer dans le détail, et qu'il n'est encore résolu ni dans un sens ni dans l'autre.

Revenant maintenant au terrain de la pratique, nous serons armés pour nous défier un peu des conclusions à tirer des essais de M. Kastner. On aurait pu du reste objecter à ces essais qu'ils sont peu nombreux, que les résultats négatifs sont si peu probants qu'il aurait suffi d'une seule expérience positive pour renvoyer dans l'ombre toutes les autres. M. Kastner répond, il est vrai, que ses résultats négatifs sont en parfait accord avec ceux du plus grand nombre des expérimentateurs, que si Toussaint et Peuch ont réussi à rendre un porc tuberculeux en lui inoculant du suc de viande tuberculeuse, ils n'ont pas démontré que cet unique porc n'était pas tuberculeux avant l'opération, que d'ailleurs la viande tuberculeuse semble bien inoffensive, puisque on n'en mange pas d'autre dans les abattoirs, où la tuberculose est moins fréquente qu'ailleurs. Tous ces arguments semblent un peu sujets à caution. On ne consomme guère dans les abattoirs que de la viande salée et cuite, ce qui enlève à l'argument sa valeur probante au regard de la viande crue. Mais nous ne voulons pas pousser plus loin l'examen de ce sujet en le mélangeant d'autres influences, telles que celles de la cuisson ou de la salaison, sur lesquelles on trouvera du reste quelques renseignements dans les deux mémoires qui suivent. Nous ne voulons pas davantage entrer dans l'examen complet de la thèse d'hygiène qu'ont essayé de résoudre les expériences que nous venons de passer en revue. Il nous suffit d'avoir montré que tant que le problème n'aura pas été étudié scientifiquement sous les nombreux aspects qu'il présente, l'hygiène peut donner des conseils, mais n'a aucune base pour asseoir des prescriptions, et n'a pas le droit de demander la transformation en article de loi de ce qui n'est pas encore un article de foi.

Dx.

J. Forster. — Sur l'action des solutions concentrées de sel marin sur les bactéries pathogènes. *Münch. med. Wochenschr*, 1889., p. 497.

Sous ce titre, M. Forster résume les premiers résultats obtenus dans son laboratoire par M. de Freytag, au sujet de la résistance qu'opposent diverses bactéries à l'action du sel en excès. Pour se tenir le plus près possible des conditions ordinaires de la salaison des viandes, on additionnait de sel des cultures sur gélatine ou sur gélose, de façon à ce qu'il en restât un peu non dissous, et après des intervalles déterminés, on prenait une semence de ces cultures pour la porter sur de nouvelle gélatine ou sur des animaux appropriés.

L'expérience a montré, comme il fallait s'y attendre, que toutes les bactéries ne se comportent pas de la même façon vis-à-vis de ce

traitement. Les bacilles du choléra de Koch sont tués au bout de quelques heures. Le bacille du typhus, les streptocoques pyogènes, celui de l'érisypèle, les bactéries du rouget peuvent résister des semaines et des mois. Ce n'est qu'au bout d'un temps très long qu'on trouve des symptômes de dégénérescence, que l'on voit, par exemple, diminuer le nombre des colonies produites par une même quantité de semence, ou l'apparition de ces colonies devenir plus tardive.

Au sujet de la tuberculose, la question présente un intérêt pratique à cause de l'habitude assez fréquente dans les abattoirs, de ne pas jeter la chair des animaux reconnus tuberculeux, mais de la saler, et de la faire rentrer dans la consommation au bout de quelques semaines. L'expérience a montré, à ce sujet, que des cultures du bacille de la tuberculose sur gélose glycérinée pouvaient résister plus de deux mois au contact d'un excès de sel. De même la salaison soigneuse des organes tuberculeux d'un bœuf, poumons et plèvre, foie et reins, ne les a pas empêchés de rendre tuberculeux un lapin, dans le péritoine duquel on en avait injecté des fragments après les avoir soigneusement broyés. Peut-être cette résistance tient-elle à la formation de spores.

Ce qui semblerait le prouver, d'après M. Forster, c'est que le bacille charbonneux en bâtonnets, pris dans le sang, la rate et le foie d'animaux morts du charbon, ne résiste pas plus de 24 heures à l'action d'un excès de sel, tandis que des spores du même bacille, provenant d'une culture sur pomme de terre, ont conservé la vie et leur virulence pendant plusieurs mois dans les mêmes conditions.

Peut-être pourrait-on contester à M. Forster cette analogie sur laquelle il fait fond, et qui n'est, du reste, pas nécessaire pour expliquer la résistance du bacille de la tuberculose, puisque nous avons vu plus haut le coccus de l'érysipèle se montrer très résistant, bien qu'on ne lui connaisse pas de spores. Mais ce détail n'est rien dans l'ensemble des faits, qui sont évidemment très intéressants pour la théorie et la pratique.

Dx.

H. Buchner. — Sur l'action, mortelle pour les bactéries, qu'exerce le sérum privé de cellules. *Centralbl. f. Bakt.*, t. V, p. 817, et *Münch. med. Wochenschr.*, 1889, p. 590.

Nous avons déjà signalé, dans le tome II de ce recueil, les expériences de M. Nuttall au sujet de l'action destructive qu'exerce le sang sur les microbes qu'on y introduit. Le bacille du charbon, les *bacillus subtilis* et *megaterium*, le *Staphylococcus pyogenes aureus* y périssent en quelques heures, lorsque le sang est frais. Mais au bout d'un temps plus long,

ce même sang redevient un milieu nutritif favorable et permet la multiplication des microbes qu'on y a récemment ensemencés, aussi bien que de ceux qui, ensemencés à la sortie de la veine, ont résisté à l'influence mortelle des premières heures du séjour. Enfin le sang perd aussi ces mêmes propriétés après une demi-heure à une heure de chauffage à 55°.

Ces résultats étaient bien curieux, et malheureusement la méthode qui les avait fournis n'était pas à l'abri de tout reproche. M. Nuttall divisait son sang défibriné, et maintenu, autant que possible, à sa température normale, en petits lots qui étaient ensemencés séparément avec les espèces à étudier, conservés en l'état, et étudiés séparément aussi après des intervalles variables, pour savoir, par la méthode des cultures sur plaques, le nombre de germes qui y étaient restés vivants. Il vaut évidemment mieux faire l'ensemencement dans une masse unique de sang, dont on prend de temps en temps des échantillons pour les soumettre à la méthode des cultures sur plaques. C'est ce qu'a fait M. Buchner, et ce procédé lui a en outre permis de mettre en lumière divers points que M. Nuttall avait laissés dans l'ombre.

Après s'être assuré que le sang normal et le sang défibriné donnaient à peu près les mêmes résultats, il défibrine celui qui coule d'une canule enfoncée dans la carotide, en l'agitant avec des perles de verre dans un vase stérilisé, et le distribue ensuite, au moyen d'une pipette, dans des tubes à essai stériles dans lesquels se fait l'ensemencement. De chacun de ces tubes, on enlève alors le contenu d'une anse de platine pour le mélanger à de la gélatine et en faire une culture sur plaques. On recommence la même opération après 2 heures, puis après 6 heures, et on compare les résultats.

Ces résultats confirment ceux de M. Nuttall, en ce qui concerne l'influence mortelle du sang sur les bactéries, et la perte de cette influence sous l'action d'un chauffage d'une heure à 55° ; mais ils les contredisent en ce qui touche cette même perte avec le temps, car M. Buchner a vu du sang conservé 7 jours, soit à chaud, soit à froid, garder à peu près intacte l'action destructive qu'il avait à l'origine.

Ceci met hors de cause toute influence leucocytaire, et la question est de savoir à quoi est dû le phénomène. C'est à ce point de vue que les faits suivants ont leur importance. Le sang de lapin et le sang de chien, qui se ressemblent beaucoup dans leur action, ne l'exercent pas de la même façon sur les diverses espèces de bactéries. Le *bacillus pyocyaneus* et une espèce de bacille provenant de l'intestin, analogue au bacille typhique, mais croissant beaucoup plus activement que lui, et avec lequel on l'a sans doute souvent confondu, ces deux bacilles sont les plus difficiles à tuer parmi ceux qui ont été étudiés. Les bacilles

du typhus et du choléra, le *bacterium coli commune* et le *bacillus fœtidus* ont au contraire été des moins résistants; les bacilles du charbon et du rouget occupaient une place intermédiaire.

La nature du microbe n'est pas seule à jouer un rôle. Il y a aussi à tenir compte de la quantité de semence. Les microbes résistent d'autant mieux qu'ils sont plus nombreux à l'origine.

On peut aussi se demander auquel des deux éléments du sang, sérum où globules, appartient l'influence observée. En cherchant dans cette voie, M. Buchner a obtenu des résultats contradictoires jusqu'au jour où il a remarqué que, dans toutes les expériences sur ce sujet, il y avait en jeu deux influences contradictoires : une action destructive, une action nutritive et de multiplication. Ce même sérum qui tue les bactéries qu'on y introduit, les laisse se multiplier si on y ajoute une proportion convenable de peptone de viande, et il devient alors tout naturel de penser que si, à un moment donné, le sang qui tuait jusque-là les microbes commence à pouvoir les nourrir, c'est que les globules rouges, en s'y détruisant, y ont introduit des matériaux nutritifs solubles qui manquaient auparavant.

En effet, du sang dans lequel on provoque la destruction des globules rouges par une série de gels et de dégels successifs ne conserve plus trace de son influence nocive sur les bactéries, tandis que du sérum privé de cellules, traité de la même façon, ne perd rien de son pouvoir. On obtient ce sérum, en laissant le sang se coaguler spontanément dans des vases stériles tenus dans la glace, et en décantant le sérum au moyen de pipettes stériles.

C'est donc au sérum du sang qu'il faut attribuer l'action observée pour ce liquide, bien que le sérum se montre un peu moins actif que le sang complet. On en a d'autant plus le droit que le sérum perd aussi sa propriété par une demi-heure de chauffage à 55°. Un chauffage à 52°, pendant le même temps, reste au contraire sans effet.

Nous voilà tout naturellement conduits à nous demander quelle est dans le sérum la matière active. Sans répondre d'une façon précise à cette question, M. Buchner a pourtant fait des constatations qui ne sont pas sans intérêt. Je passe rapidement sur ses recherches au sujet de l'influence possible du *fibrinogène* ou du *ferment de la fibrine* dont on admet la présence dans le sérum. Je persiste dans l'opinion que les substances appelées de ces noms sont fort mal définies, et qu'il est par conséquent très difficile de leur attribuer ou de leur refuser une propriété quelconque. Mais voici un fait plus curieux.

En soumettant du sérum, dans des éprouvettes, à une série de congélations et de dégels successifs, en ayant soin de le laisser dans un parfait repos, il se fait un dépôt qui amène au fond de l'éprouvette les parties les plus riches en matériaux solides, pendant que les parties

les plus aqueuses passent à la surface ; c'est en quelque sorte, et sans doute par le jeu bien connu des congélations, une superposition de couches par ordre de densités. Si bien que dans un cas la partie supérieure ne renfermait que 0,5 $^0/_0$ de matériaux solides, la couche moyenne 4,9 $^0/_0$, et la couche inférieure 20,1 $^0/_0$. Or, on constate que, seules, les couches inférieures de ce sérum tuent les bacilles qu'on y mélange, tandis que les couches supérieures en permettent la multiplication immédiate.

Ceci ne suffirait pas, comme le pense M. Buchner, à mettre hors de cause l'influence d'un alcaloïde ou d'une matière soluble, pour tout faire rapporter à l'action de la matière albuminoïde concentrée dans le fond de l'éprouvette. La congélation amène, on le sait, le départ des matériaux solubles comme celui des matériaux en suspension, et rien ne prouve *a priori* que si un alcaloïde est la matière active, il ne soit pas beaucoup plus abondant au bas de l'éprouvette que dans le haut. Mais rappelons-nous que le sérum devient inactif à 55° ; il n'y a guère que des alcaloïdes très volatils pouvant disparaître à cette température, et on ne comprendrait pas comment ils pourraient persister à 52°.

Cette influence de la température fait songer à une diastase, et étant donnés les faits tout récemment produits par MM. Roux et Yersin à propos de la diphtérie, cette hypothèse semble digne d'examen. Elle explique au moins ce fait qui a surpris M. Buchner, c'est qu'on ne constate aucune différence soit à l'œil, soit sous l'action des réactifs, entre le sérum normal et le sérum devenu inerte à la suite d'un chauffage à 55°. Elle semble aussi plus naturelle que celle qui attribue le phénomène à une certaine persistance de la vie dans le sang et le sérum. Cette action vitale, persistant 7 et même 20 jours dans du sang recueilli dans une éprouvette, semble un peu mystique. Elle n'explique guère en outre que le sérum de bœuf et de cheval n'aient pas les propriétés, nocives aux bactéries, du sang de chien et de lapin.

L'hypothèse d'une diastase me semble en outre assez d'accord avec de récentes expériences, faites par MM. Buchner et Orthenberger, et dont la connaissance ne m'est venue que lorsque cet article était déjà écrit. En soumettant du sérum à la dialyse, ces savants ont constaté que le sérum dialysé perdait toutes ses propriétés. On ne les retrouve pas dans le liquide de dialyse. On ne saurait donc expliquer cette disparition par la diffusion d'une substance toxique pour les bactéries. Il faut donc recourir à la perte de sels solubles subie par le sérum.

Ce qui prouve, dit M. Buchner, que c'est bien là la cause, c'est que si on opère la diffusion, non dans l'eau, mais dans une solution de

sel marin à 8 grammes par litre à laquelle, par une addition de soude, on a donné la même alcalinité que le sérum, celui-ci conserve après diffusion son action nocive sur les bactéries. D'un autre côté, si on étend deux quantités égales de sérum, l'une de 19 parties d'eau, l'autre de 19 parties de la solution physiologique de sel marin, on constate que la première est sans action sur les bactéries, tandis que la seconde conserve la propriété de les tuer par simple contact. Ces deux expériences témoignent que cette propriété du sérum est liée à sa teneur en sels, et que ceux-ci agissent, non pas directement (car 8 grammes de sel par litre ne peuvent rien produire par eux-mêmes), mais « en ce qu'ils interviennent dans la composition normale et par là dans les propriétés des matières albuminoïdes du sérum ».

Il me semble que tout ceci est un peu nuageux, et que ces expériences s'interpréteraient bien mieux dans l'hypothèse d'une diastase que la diffusion des sels amènerait soit à se précipiter directement, comme c'est le cas pour diverses diastases, soit à s'attacher, comme c'est le cas pour toutes, au dépôt flottant et insoluble de matière albuminoïde qui résulte de la disparition des sels dans le sérum. Avant d'accepter les conclusions de M. Buchner, on aurait aimé à le voir pousser à fond l'examen de cette interprétation rivale de la sienne. Mais on ne pourrait, sans injustice, reprocher à son mémoire, déjà très riche, de ne pas tout contenir. Ce qui précède ouvre une voie de recherches nouvelles et des plus intéressantes, car nous croyons que M. Buchner a raison en considérant cette action destructive du sang sur les bactéries « comme un des faits les plus généraux et les plus fondamentaux de l'histoire des infections ». Il se défend en terminant de s'être mis en contradiction avec la doctrine des phagocytes de M. Metchnikoff, doctrine qu'il trouve « trop bien fondée par ailleurs, sur la théorie et sur les faits, pour subir de ceux qui précèdent autre chose qu'une limitation dans son caractère de généralité ». Nous répéterons à ce sujet ce que nous avons dit plusieurs fois, c'est que M. Metchnikoff n'a jamais voulu faire de la phagocytose le mode unique de résistance à l'infection, et que tout récemment encore il protestait contre cette idée.

Dx.

F. Loeffler. — Nouvelle méthode de coloration des microorganismes surtout de leurs cils et de leurs flagelles. *Centralbl. f. Bact.*, t. VI, p. 209.

Nos connaissances sur les cils et les flagelles dans le monde des bacilles et des micrococcus progressent lentement. C'est que ces organes sont très difficiles à apercevoir, même lorsqu'ils sont au

repos. Leur diamètre étant du même ordre de grandeur que la longueur d'onde de la lumière qui les frappe, ils peuvent ne pas produire derrière eux d'image saisissable, même pour les instruments les plus puissants. De plus la matière dont ils sont formés étant transparente et à peu près du même degré de réfringence que l'eau, il se produit pour eux, bien plus que pour les bacilles plus épais et plus différenciés qui les portent, ce phénomène dont je parlais dans le numéro précédent, à propos de l'atlas de MM. Fraenkel et Pfeiffer, c'est-à-dire que leur éclat intrinsèque n'est pas plus augmenté que celui du fond transparent sur lequel ils se projettent, par le passage au travers du système grossissant. Leur éclat relatif ne varie donc pas, et ils restent invisibles alors même que le grossissement les a amenés à sous-tendre pour l'œil un angle supérieur à celui que peuvent dédoubler les éléments rétiniens.

Il y a deux moyens de tourner ces obstacles. Pour le premier, celui qui tient à la dimension absolue, comparable à la longueur d'onde, des éléments à étudier, on a la ressource de s'adresser à la plaque photographique qui utilise des ondes plus longues, et peut permettre par suite d'apercevoir des éléments plus fins. J'ai suffisamment indiqué, dans mon livre le *Microbe et la maladie*, les raisons de cet avantage de la photographie, et basé sur elle des espérances qui commencent à se réaliser. Je n'y reviendrai pas. Vis-à-vis du manque de différenciation de l'image, quand elle est formée et qu'elle a pénétré dans l'instrument, il y a la ressource des matières colorantes qui, en rendant à peu près opaque le cil ou le bacille, lui donnent vis-à-vis du fond, une différence d'éclat que le microscope augmente ensuite proportionnellement à son grossissement. Il est même probable, sans que la chose ait été démontrée, au moins à ma connaissance, que ce dépôt de matière colorante, étant surtout superficiel, augmente l'épaisseur de l'organe sur lequel il s'est déposé, et le rend ainsi plus visible. L'augmentation est très faible, si on veut, mais elle n'a pas besoin d'être grande pour doubler l'épaisseur d'un cil vibratile.

L'introduction des matières colorantes dans la technique microscopique a permis, en effet, en 1877, à M. Koch de voir les cils de grosses bactéries mobiles. Sa méthode consistait à traiter la préparation sèche par l'extrait de bois de campêche, et ensuite par l'acide chromique ou le liquide de Muller. Tout récemment M. Neuhauss a préconisé un autre procédé qui consiste à faire bouillir 5 minutes la préparation sèche avec de l'encre, à la laisser ensuite un quart d'heure dans une solution tiède et faible de chromate de soude, et à recommencer 2 ou 3 fois l'opération jusqu'à ce qu'on ait atteint le

résultat voulu. Mais cette méthode ne lui a pas permis d'apercevoir les cils des bactéries mobiles les plus petites.

Il y a longtemps que l'emploi des matières colorantes a réveillé chez les micrographes le souvenir et l'idée des mordants, qui rendent tant de services dans l'industrie. Tantôt ces mordants dilatent et tantôt ils contractent les éléments sur lesquels ils se fixent; ils peuvent par conséquent amener des augmentations de diamètre et agir sur la visibilité autant en agrandissant les dimensions qu'en produisant des différences d'éclat; quelques-unes des pratiques de coloration, si nombreuses maintenant, sont précédées de véritables attaques par des mordants. Mais, comme le fait observer avec raison M. Lœffler, on a été arrêté dans l'emploi direct de quelques-uns d'entre eux, et des plus puissants, par exemple le tannin, par le précipité qu'il fournit dans les liquides chargés de matières albuminoïdes dans lesquels on cultive d'ordinaire les microbes. Il salit les préparations en les remplissant d'un fin dépôt qui couvre tout. L'étude de l'encre, qui contient à la fois un mordant et une matière colorante, a conduit M. Lœffler à une méthode au moins égale aux autres pour la coloration des microbes, et supérieure par la visibilité qu'elle communique à leurs cils et leurs flagelles. Cette méthode comprend l'emploi des deux dissolutions suivantes :

1° *Mordant.* — A 10 ^{cc} d'une solution aqueuse de tannin à 20 0/0, on ajoute goutte à goutte une solution aqueuse de sulfate de fer jusqu'à ce que le liquide soit violet noir. On ajoute ensuite 3 ou 4^{cc} d'une décoction de campêche (1 p. de bois pour 8 p. d'eau), ce qui donne un liquide d'une teinte violet sale; il ne faut pas aller jusqu'à produire un précipité granuleux. Cette solution se conserve plusieurs jours, en se fonçant; elle se couvre parfois d'une pellicule, et sur les parois du vase apparaissent des masses noires; le liquide peut quand même servir. Le mieux est de le conserver dans des vases clos. Une addition de 4 à 5 ^{cc} d'une solution à 5 0/0 d'acide phénique le rend plus facile à conserver, sans lui enlever sensiblement de ses qualités comme mordant.

2° *Solution colorante.* — A 100 ^{cc} d'une solution aqueuse saturée d'aniline, on ajoute 1^{cc} d'une solution à 1 0/0 d'hydrate de soude, de façon à lui donner une réaction franchement alcaline, ensuite 4 à 5 grammes de violet de méthyle, ou de bleu de méthyle, ou de fuchsine; on agite jusqu'à dissolution. Ces solutions concentrées se conservent plusieurs semaines.

Quand le liquide contenant les bactéries à étudier est pauvre en albumine, en matières muqueuses ou en sels, on l'étend directement sur le couvre-objet. Dans le cas contraire on en dilue une petite quantité dans une goutte d'eau distillée, puis un peu de celle-ci dans une autre,

et ainsi de suite deux ou trois fois, jusqu'à ce qu'on ait un liquide très pauvre en albumine. Ces gouttelettes sont étalées, desséchées, et on choisit celle qui convient le mieux.

Les lamelles, séchées à l'air, puis passées à la flamme, sont recouvertes d'une couche de mordant et maintenues à une distance de la flamme, telle que le liquide fume faiblement. Au bout d'un moment, on verse l'excédent de liquide, on lave spécialement sur les bords, où il pourrait rester du mordant qui donnerait ultérieurement un précipité avec la matière colorante. La préparation ressort en gris; le verre doit être tout à fait clair. On filtre alors sur le verre 2 on 3 gouttes de la solution colorante, qu'on promène à la surface et qu'on chauffe ensuite modérément. Il vaut mieux chauffer moins et plus longtemps, que d'aller plus vite et de chauffer plus fort. Les parties ayant subi l'action du mordant se foncent beaucoup. Quand on juge la teinte suffisante, on lave et la préparation est prête. Elle présente à la lumière incidente l'éclat rouge verdâtre de la fuchsine solide, quand on a employé cette substance qui se prête mieux que les autres à la photographie.

Toute méthode se juge à ses résultats et aux notions nouvelles qu'elle apporte dans la science. A ce point de vue, il faut saluer celle de M. Lœffler comme un véritable progrès. Je laisse de côté les points sur lesquels elle ne dépasse pas les précédentes. Le point sur lequel elle semble tout à fait supérieure, peut-être uniquement à cause de l'intensité de la teinte, c'est la coloration des cils et des flagelles. M. Lœffler a étudié, à ce point de vue, divers groupes de microbes que voici :

a. Bactéries courbes. — Parmi les vrais spirilles, M. Lœffler a étudié le gros *Spirillum undula*, le *Spirillum rubrum* d'Esmarch, et le *Spirillum concentricum* de Kitasato. Tous ces spirilles ont à leurs extrémités des cils très fins, dirigés dans le sens de la courbure en ce point, semblant lui faire suite, et ne présentant jamais d'ondulations. Ces cils sont toujours multiples. Quand on n'en voit qu'un, comme dans le *Spirillum undula*, c'est une agglomération de filaments plus fins. C'est ce qu'on voit très bien sur l'une des très belles photographies jointes au travail. Cela est vrai aussi pour les autres spirilles; ce n'est que dans des spirilles plus fins et non encore dénommés qu'on a constaté la présence d'un cil, sans pouvoir le dédoubler en filaments.

Tout autres sont les cils des bactéries recourbées en virgule, dont les représentants les plus importants sont les bactéries du choléra. Beaucoup d'observateurs ont cherché des cils à ces bactéries mobiles. Neuhauss paraît avoir réussi à en voir sur un négatif deux, portant un cil, alors que l'observation la plus attentive n'en montrait aucun dans la préparation. Ce fait, qui semble suspect à M. Lœffler, est,

comme je le rappelais plus haut, dans l'ordre des choses possibles; il n'y a, au moins, aucune objection *a priori* à lui adresser. Mais la constatation de Neuhauss n'était pas suffisante pour établir ce point de doctrine. Ses bactéries avaient été cultivées dans des conditions particulières: on pouvait se demander s'il n'avait pas pris pour des cils des impuretés filamenteuses de la préparation, etc. Il faut donc savoir gré à M. Lœffler d'avoir montré, par sa méthode, que dans une préparation contenant des bactéries du choléra mobiles, presque chaque bacille a ses deux cils. Mais ces cils diffèrent de ceux des spirilles en ce qu'ils sont ondulés et présentent même souvent deux inflexions. Leur longueur est de une fois à une fois et demie la longueur du bâtonnet, leur largeur 1/5 à 1/8 de la sienne.

Les cils du bacille de Finkler-Prior et de la bactérie en virgule de Metchnikoff ont à peu près le même aspect dans le bacille du choléra. Ces différences, constantes dans la structure et la forme des cils des spirilles et des bacilles en virgule, conduisent M. Lœffler à séparer ces genres, et à rapprocher les komma-bacilles de la famille des vibrions dans laquelle il a souvent trouvé des cils ondulés.

b. Micrococcus. — Le coccus que Ali-Cohen a décrit comme mobile (v. ce numéro, p. 507) s'est montré porteur d'un cil très fin, dont la longueur est de 4 à 5 fois le diamètre du coccus.

c. Bacilles. — En dehors de bacilles vulgaires, rencontrés dans diverses infusions, tous trouvés porteur de cils, et dont l'un est probablement identique avec celui chez lequel Koch d'abord, puis Fraenkel et Pfeiffer dans leur bel *Atlas* avaient déjà décrit cet organe, M. Lœffler a étudié le bacille du typhus, chez lequel il n'en a pu trouver d'une façon sûre. Même insuccès avec le *Bacillus mesentericus vulgaris* de Flügge, et d'autres bacilles analogues à celui de la fièvre typhoïde.

Tous ces bacilles sont entourés d'une enveloppe gélatineuse qui se détache du verre, quand, après avoir séché la lamelle, on la recouvre à nouveau de liquide. En se détachant du dépôt produit par l'action du mordant, le bacille y détermine des fissures qu'on est exposé à prendre pour des cils. Pour éloigner cette substance gélatineuse, M. Lœffler recommande de traiter la lamelle, avant de la soumettre à l'action du mordant, par une solution de 1 à 10 0/0 de sulfate de soude. Mais même en se servant de cette substance, il n'a pas vu de cils. Il en a été de même en essayant d'autres mordants. Ces recherches ne sont pas closes, et il faut espérer que M. Lœffler nous donnera bientôt un nouveau mémoire aussi riche en faits nouveaux que celui que nous venons d'analyser.

Dx.

Kraus. — Contribution à la connaissance des phénomènes d'oxydation dans le sol. *Diss. inaug. Erlangen*, 1888. — O. Schulz. Recherches sur l'influence des micro-organismes sur les phénomènes d'oxydation du sol. *Münch. med. Wochenschr.*, p. 557 et 574, 1889.

Les phénomènes d'oxydation qui se produisent dans le sol ont donné lieu, jusqu'ici, à tant d'assertions contradictoires, que les esprits sont un peu dévoyés à leur sujet. Sans revenir sur l'histoire du passé, qui serait longue, je voudrais profiter des deux travaux mentionnés en tête de cet article pour relever quelques-unes des causes d'erreur auxquelles on est exposé dans cette étude, et montrer de quel côté est à mon sens la vérité.

Les phénomènes d'oxydation produits dans le sol exigent-ils absolument le concours des microbes, ou peuvent-ils se produire sous l'action chimique de l'oxygène, aidée, s'il le faut, par d'autres actions non vitales, telles que celles de la chaleur, de la lumière, de l'acidité ou de l'alcalinité du milieu, etc. ? Telle est la question qu'on s'est posée et qu'on devait en effet se poser à partir du jour où il a fallu tenir compte des microbes dans les phénomènes de l'agriculture.

Pour résoudre ce problème, il n'y a, il semble, qu'à instituer 2 séries d'expériences parallèles, l'une avec un sol naturel, l'autre avec le même sol stérilisé. En essayant dans les mêmes conditions l'oxydation d'une même substance dans ces deux sols comparatifs, il semble qu'on doive arriver de suite à une conclusion.

Mais la première difficulté à résoudre est la stérilisation du sol naturel ou artificiel sur lequel on opère. Il n'est déjà pas commode de porter tous les points d'une masse de sable siliceux à la température nécessaire pour y détruire les germes. Il faut, si le sable est sec, prolonger beaucoup l'action de la chaleur ; s'il est humide, le chauffer en vases clos, pour que la vapeur, qui est un puissant régulateur de température, ne s'en échappe pas ; quand il s'agit de corps poreux comme le charbon pilé ou la terre végétale, les précautions doivent encore être plus grandes. Un courant même prolongé de vapeur d'eau, tel que celui que M. Kraus a employé dans ses expériences, ne suffit pas. Il faut, de toute nécessité, suivant les cas, un séjour de une demi-heure à une heure à 130° pour stériliser gros comme le poing de terre végétale. Encore n'y arrive-t-on pas toujours, et il est toujours utile de se méfier des germes que la stérilisation aurait pu laisser vivants, quand, l'expérience faite, on passe à son interprétation.

Je passe rapidement sur les difficultés qu'il y a à maintenir la stérilité de cette portion de terre, après l'avoir imprégnée de la solution organique dont on veut étudier l'oxydation, et sous l'influence du cou-

rant d'air, auquel on la soumet. Il y a pourtant des travaux dans lesquels on ne s'est pas préoccupé de ces difficultés, ou dans lesquels on a cru les résoudre en employant machinalement la technique qui les évite d'ordinaire. En technique comme ailleurs, la lettre tue et l'esprit vivifie.

Supposons pourtant qu'on ait évité toutes ces causes d'erreur, et qu'on ait constaté un fait bien déterminé, par exemple celui-ci, qui forme la principale conclusion du mémoire de M. Kraus, que la stérilisation diminue, mais ne réduit pas à zéro les oxydations de certains acides organiques dans le sol. Par exemple l'acide citrique, l'acide tartrique s'oxydent faiblement dans des sols, naturels ou artificiels, que M. Kraus croyait stériles. Supposons qu'ils le soient réellement, et que l'influence des microbes soit ainsi écartée. Reste à savoir à quoi attribuer l'oxydation produite. Parmi les causes connues, il y en a trois au moins qu'on peut invoquer : L'action de la lumière ; celle de la réaction du sol mélangé avec la substance oxydable; celle de la porosité du sol.

Celle de la lumière ne s'exerce, il est vrai, qu'à la surface, dans les flacons de verre où la plupart des expérimentateurs ont fait leurs essais, mais elle est quelquefois si puissante qu'il peut s'établir une compensation, et qu'on n'a pas le droit de l'éliminer *a priori*. L'action de la réaction acide ou alcaline du sol n'est pas moins puissante. L'acide oxalique, par exemple, est très instable en liqueur acide, très stable en liqueur neutre. Les matières sucrées, au contraire, sont très stables en milieux acides, très instables en milieux alcalins. Enfin, lorsqu'à ces influences variables vient se superposer l'influence si mystérieuse encore de la porosité, et si nous ajoutons, en outre, pour mémoire, les phénomènes d'oxydation par entraînement comme ceux que produisent les essences, et d'autres encore moins connus, on comprendra que même les études les mieux conduites puissent donner des résultats opposés, uniquement parce que l'observateur ne s'est pas rendu maître de toutes les conditions de son expérience. C'est dans ces conditions que la science se peuple d'assertions contradictoires, entre lesquelles on ne sait comment choisir.

Pour éviter toutes ces difficultés dans l'étude de cette question, que j'avais rencontrée dans mes recherches sur la germination dans les sols stériles, j'avais été conduit à simplifier au maximum les conditions d'expérience en supprimant le corps poreux, et en étudiant comment se comportent sous l'influence de l'oxygène, à la lumière et à l'obscurité, des solutions simplement aqueuses de diverses substances organiques. J'ai réuni ainsi un certain nombre de faits, que j'ai résumés dans ces *Annales* (V. t. I), et qui s'accordent tous à montrer la très grande stabilité des substances organiques à l'obscu-

rité, et leur instabilité relative à la lumière, cette instabilité restant liée pour la plupart d'entre elles à des questions d'acidité ou d'alcalinité du milieu.

Je n'ai pas examiné l'influence des corps poreux, mais les résultats de mon étude me permettent de porter un jugement sur la plupart des travaux relatifs à ce sujet. Il est évident, par exemple, d'après ce que j'ai dit plus haut, que le travail de M. Kraus ne mérite aucune créance. M. Kraus s'était contenté, après avoir disposé dans de grands flacons tubulés par le bas la terre de jardin, le sable graveleux, le charbon ou le verre pilé qui lui servaient d'excipients pour ses solutions d'acide citrique ou d'acide tartrique, de soumettre le tout à un courant de vapeur d'eau. Il est clair qu'il y avait là, à l'origine, une cause générale d'erreur qui viciait toutes ses expériences, et on était d'autant plus fondé à leur refuser toute confiance qu'elles étaient contradictoires. Il y avait, il est vrai, le plus souvent, une oxydation faible dans un sol stérilisé, mais dans deux expériences cette oxydation avait été nulle, sans qu'il y eût aucune raison pour cette exception.

Les expériences rapportées par M. Schulz, et qui sont dues à MM. Hirsch et Behrend, montrent, en effet, que ces doutes étaient légitimes. M. Hirsch a fait voir que l'acide citrique, le sucre de raisin, l'urine ne s'oxydaient pas sous l'influence d'un courant d'air, en présence de charbon pulvérisé ou de terre de jardin stérilisés à 180°, ce qui n'est pas excessif, puisque la stérilisation avait lieu à sec. Ils s'oxydent, au contraire, notablement dans les mêmes milieux non stériles.

Ces résultats sont d'accord avec tous ceux que j'ai observés, et démontrent que la porosité de l'excipient ne change rien aux conditions d'oxydation à l'obscurité, au moins pour les substances qui précèdent. Faut-il de ces quelques faits tirer une conclusion générale, et admettre que les microbes sont absolument nécessaires aux phénomènes d'oxydation qui se produisent dans le sol? L'idée de la complexité du phénomène, tel que je l'ai exposé plus haut, nous protège contre cette tentation. En pareille matière, il n'y a pas de loi absolue, il n'y a que des cas particuliers, et c'est peut-être à ce point de vue qu'il faut se placer pour apprécier les conclusions que M. Behrend a tirées dans ses recherches sur la nitrification. En essayant ce que devenaient au bout de 6 à 8 semaines, dans de la terre et du charbon stérilisés et et non stérilisés, des dissolutions de carbonate d'ammoniaque, de sel ammoniac, d'urée, d'urine, d'albumine, de peptone et de leucine, il a vu qu'il se produisait partout des quantités sensibles de nitrates ou de nitrites, sauf dans deux cas, où il y avait précisément du carbonate d'ammoniaque en contact avec de la terre et du charbon stérilisés.

Si ces résultats sont exacts, l'influence du corps poreux est évidente, car je n'ai jamais vu s'altérer, même au soleil, des solutions aqueuses d'urée ou d'albumine. Mais d'un autre côté, le résultat relatif à la stabilité du carbonate d'ammoniaque est en contradiction avec les idées actuelles. Que conclure? C'est que ces contradictions ont le droit d'exister, et qu'il y a à en trouver la loi. Nous aurons bientôt des documents nouveaux à publier sur ce sujet de la nitrification, où, malgré tout, les microbes jouent un rôle qui la fait rentrer dans le cadre de ces *Annales*.

Dx.

E. Klein. — Une maladie infectieuse aiguë du *grouse* d'Ecosse (Lagopus Scoticus). *Centralbl. f. Bakt.*, t. VI, p. 36.

On sait quel rôle joue, dans la vie de nos voisins d'outre-Manche, le sport quasi national de la saison des *grouses*, qui commence le 12 du mois d'août et se termine à la fin de septembre. Ce sport est troublé depuis quelques années par une maladie à la fois endémique et épidémique, qui commence à sévir aux environs du milieu d'avril, prend une extension variable, une acuité qui atteint son maximum au milieu de juin, et décroît ensuite, mais après avoir quelquefois dépeuplé de grouses les marais qui les abritent.

Le premier symptôme de la maladie chez un animal est que son vol n'est pas aussi rectiligne, aussi puissant et aussi durable qu'à l'ordinaire. Sa voix s'enroue, et cela se remarque surtout chez le mâle, dont le cri avant et pendant la couvée est clair et caractéristique; les plumes du dos perdent de leur éclat, celles des jambes tombent; les paupières pâlissent. La maladie dure plusieurs jours, l'animal s'affaiblit peu à peu et recherche l'eau au moment de sa mort, car on le trouve en abondance partout où il y a un ruisseau ou un canal.

A l'autopsie, on le trouve maigri; la séreuse intestinale est couverte d'un piqueté hémorragique, la muqueuse est aussi injectée. La rate est petite et noire, les reins et le foie sont hypérémiés. Le foie présente aussi quelquefois à sa surface des taches nécrotiques. Les poumons sont enflammés, et ce caractère est aussi constant que les modifications du foie. Le cœur est rempli de sang coagulé.

Dans les parties enflammées du poumon et du foie, on trouve en abondance une petite bactérie. Sur 12 poules, étudiées par la méthode des cultures, 16 heures après leur mort, deux seulement n'ont rien donné, une a donné deux microbes, les neuf autres ont donné la même bactérie, en quantités si grandes qu'une petite anse de platine chargée de suc pulmonaire apportait sur la gélatine les germes de 50 à 100 colo-

nies au moins, et quelquefois de plusieurs milliers. Il n'y avait rien avec le sang du cœur. Dans le foie, il y en avait moins que dans le poumon. En surface, ces colonies forment des taches irrégulières, à bords amincis, transparentes, et d'un gris brillant à la lumière réfléchie. Après 6 à 8 jours, elles cessent de croître. En piqûre, elles forment une série de gouttelettes, colorées en rouge brun, et qui restent petites, pendant qu'à la surface de la gélatine la tache s'étend plus vite. Les cultures réussissent aussi sur la gélose et dans du bouillon de viande alcalin.

Le microbe pris dans le poumon et le foie de la poule de marais, aussi bien que dans la gélatine ou la gélose, est un coccus rond, parfois un peu ovale; on trouve pourtant quelquefois, çà et là, dans les cultures jeunes et vieilles, une forme en bâtonnets, parfois isolés, parfois en chaînes courtes, et toutes les formes de transition entre le coccus et le bâtonnet. La culture sur plaques montre que c'est partout le même être. Le coccus à 0, 4 μ, le bâtonnet de 0, 8 μ à 1, 6 μ.

M. Klein n'a pas encore réussi à se procurer des *grouses* vivantes, et n'a pu essayer encore sur elles les effets de l'inoculation. Il a échoué sur la poule domestique, le pigeon et le lapin. Il a été plus heureux avec la souris blanche et le cobaye.

Sur 8 souris inoculées sous la peau du dos avec une et deux gouttes de culture sur bouillon et sur gélatine, 4 sont mortes en 30 heures, 2 en 48 heures, 2 sont restées vivantes.

Sur 8 cochons d'Inde ayant subi la même inoculation, 2 sont morts en 36 heures, 2 en 48 heures, et les 4 autres sont restés en vie, après avoir présenté un cordon induré le long de la ligne d'inoculation.

Sur les morts, on a observé de l'hypérémie dans les poumons, qui étaient noirâtres et enflammés. Le cœur droit était rempli de sang coagulé, le cœur gauche en systole. La rate n'est pas grossie. Le foie et les capsules surrénales sont fortement hypérémiés. Le sang du cœur et les poumons présentent en grande abondance la bactérie; elle y a surtout la forme de coccus. Mais les cultures de ce sang donnent plus souvent la forme en bâtonnets que celles du suc pulmonaire des grouses.

Ce mémoire n'est évidemment qu'une communication préliminaire. Il sera curieux de voir, à mesure que la science se développera sur ce sujet, quelles relations peuvent avoir entre eux ces divers coccus-bâtonnets, dont le nombre se multiple déjà beaucoup, et qui en ce moment-ci nous paraissent distincts, tant parce qu'ils ne sont pas pathogènes pour les mêmes espèces, que parce qu'ils amènent, sur une espèce donnée, des maladies qui ne se ressemblent pas, au moins

objectivement, tout en présentant certains caractères communs qui en font une même famille. Peut-être la parenté des maladies tient-elle à la parenté des bacilles, si les bacilles sont distincts; peut-être tient-elle à des variations d'habitat et de virulence, s'ils sont au fond identiques.

Dx.

ZARNIKO. — Sur la connaissance du bacille diphtéritique. *Diss. inaug.* Kiel, 1889 et *Centralbl. f. Bact.*, t. VI, p. 153.

Avant d'avoir connu le mémoire de Roux et Yersin sur le même sujet, l'auteur s'était posé la question suivante, motivée par les discussions dont avait été l'objet le bacille de Lœffler : ce bacille est-il assez souvent présent dans les cas de diphtérie pour qu'on puisse regarder son intervention comme constante? Il y a répondu par l'examen soigneux de 20 cas de diphtérie avérée, sur lesquels 18 cas ont fourni des cultures pures du bacille. Encore les deux cas négatifs pouvaient-ils laisser quelque place au doute. Il a trouvé le bacille dans un 21e cas où le diagnostic diphtérie était très probable. En revanche, il n'a rien trouvé, par les mêmes méthodes, dans 11 cas d'angines catarrhales, dont 7 vulgaires, 3 scarlatineuses et une angine rubéolique; rien non plus sur la muqueuse saine de 18 malades souffrant : 1 du diabète, 3 de rhumatismes, 5 de maladies de peau, 1 d'épididymite, 4 convalescents de pneumonie, 2 phtisiques, 1 malade d'insuffisance mitrale, 1 de myélite chronique. Aucun de ces malades ne faisait usage d'eau pour la bouche. M. Zarniko a pourtant trouvé dans une fistule, dans un cas de polyarthrite rhumatismale, un bacille identique avec le pseudo-bacille de la diphérie de Lœffler, poussant comme lui sur le sérum, et ne se distinguant du bacille vrai qu'en ce qu'il trouble plus tôt ce bouillon, et donne au fond un dépôt plus compact.

A ces constatations il joint une description des diverses formes que peuvent prendre avec le temps les bacilles d'une même culture, et qu'ils prennent même, au même moment, quand les circonstances ne sont pas les mêmes pour tous. C'est ainsi, par exemple, que dans les colonies les plus caractéristiques de ce bacille cultivé sur sérum, la forme des bacilles n'est pas la même à la surface de la colonie et dans ses profondeurs. Il faut en accuser les variations dans les qualités nutritives du liquide et dans les changements qu'il subit sous l'influence des produits rejetés par le microbe. Tous ces phénomènes sont trop contingents, de l'aveu même de M. Zarniko, pour que nous nous arrêtions longtemps à leur étude.

Enfin M. Zarniko montre que, comme l'avait dit Lœffler, le bacille de la diphtérie est bien pathogène pour le cobaye. Mais ses expériences, dans cet ordre de faits, n'ont à aucun degré la netteté et la précision de celles de Roux et Yersin, dans lesquelles se trouve démêlé, pour la première fois, ce qu'on peut attribuer d'un côté à la virulence du bacille, de l'autre aux actions toxiques du liquide où il a vécu. Ces deux faces de l'action d'un même microbe sont souvent confondues, même par les auteurs les plus récents, et il serait facile de citer des travaux que cette confusion dépare. Il est désormais nécessaire de l'éviter. M. Zarniko a le mérite de s'y essayer, mais il doit reconnaître lui-même que MM. Roux et Yersin y ont beaucoup mieux réussi.

Dx.

N. Protopopoff. — Sur la cause de l'atténuation du virus rabique. *Centralbl. f. Bakt.*, t. VI, p. 129.

Ce travail contient une série d'expériences desquelles il ressort ceci : De la moelle rabique de lapin s'affaiblit aussi vite, quand elle est exposée à la chaleur dans du bouillon glycériné, que lorsqu'on la conserve à la même température par la méthode Pasteur, c'est-à-dire suspendue dans un flacon dont l'air est dësséché par une couche de potasse caustique. C'est donc la chaleur, et non l'action de l'air sec qui amène l'atténuation du virus rabique contenu dans la moelle; cette conclusion est d'accord avec un certain nombre de faits signalés par MM. Helmann et Babes.

Quand M. Pasteur a imaginé son procédé de conservation des moelles, il demandait surtout à l'air sec de protéger ses moelles contre l'invasion des microbes et la putréfaction. L'expérience lui ayant appris qu'on arrivait facilement à ce résultat avec quelques précautions d'usage courant, il n'a pas poussé plus loin l'étude du mécanisme de l'atténuation. On voit bien aujourd'hui que la chaleur a le rôle le plus important dans ce phénomène, mais le mot *la chaleur* ne dit rien par lui-même. Comment agit cette chaleur? est-ce en déterminant une sorte de coagulation qui rendrait le virus insoluble? cela est peu probable, étant donné que l'atténuation se fait presque à toute température, à condition qu'on lui donne le temps. Est-ce, au contraire, par un phénomène d'oxydation que la chaleur favorise? Cela est beaucoup plus probable, et on s'expliquerait assez bien, si le virus est oxydable, les cas curieux de guérison signalés par M. Hœgyes dans le dernier numéro de ces *Annales*. Cette intervention possible d'un phénomène d'oxydation n'est pas en contradiction avec les résultats de M. Protopopoff, car le virus,

étant certainement en quantité pondérables très faibles, n'a besoin que de quantités d'oxygène très petites qu'il trouve dans le bouillon aussi bien que dans l'air. Il serait curieux de savoir comment la moelle se comporte à la chaleur dans le vide. Nous ne savons pas que l'expérience ait encore été faite. Il semble cependant qu'elle vaille la peine de l'être.

Dx

Ali-Cohen. — Mouvements propres chez les micrococcus, *Centralbl. f. Bakt.*, t. VI, p. 33.

On sait qu'on n'a pas encore signalé de micrococcus ayant de mouvements propres, si bien que, depuis Cohn, on a fait de cette immobilité un caractère propre des micrococcus. M. Ali-Cohen en a rencontré un, dans une eau à boire, qui est très bien caractérisé morphologiquement comme un coccus de 1 μ, qui se présente en diplocoques, streptocoques et quelquefois en tétrades, et qui est mobile. Quand on étudie, en goutte pendante, une colonie sur gélatine, gélose ou pomme de terre, on voit à côté du mouvement brownien un mouvement spontané, pouvant prendre une vitesse d'environ 10 μ par seconde, et qui est un phénomène vital, car il disparaît sous l'influence de toutes les causes qui altèrent ou détruisent la vitalité du microbe, le bichlorure de mercure, l'acide phénique, l'acide sulfurique dilué, ou la chaleur. On peut faire, par une autre méthede, cette séparation des mouvements actifs et passifs; il n'y a qu'à profiter de l'observation d'Exner, qui a vu les mouvements browniens s'éteindre d'autant plus vite que le liquide est plus visqueux. En portant son micrococcus dans une goutte de gélatine à 5 0/0 fluidifiée par une douce chaleur, M. Ali-Cohen a vu à l'origine coexister le mouvement brownien et le mouvement volontaire. A mesure que la goutte se refroidit et que la viscosité augmente, le mouvement moléculaire disparaît et le mouvement propre persiste, pour s'éteindre à son tour quand la goutte est solidifiée.

Ce caractère distingue ce coccus de tous ceux qui ont été observés jusqu'ici, aussi M. Ali-Cohen propose-t-il de le nommer *micrococcus agilis*. On verra du reste, dans l'analyse ci-jointe du mémoire de M. Lœffler, que le micrococcus de M. Ali-Cohen porte un cil, et qu'ainsi sa mobilité est facilement explicable.

Dx.

E. Klein. — Nouvelle contribution à la connaissance de l'entérite infectieuse des poules. *Centralbl. f. Bakt.*, t. VI, p. 257.

Nous avons parlé plus haut des premières recherches de M. Klein sur ce sujet. Il y avait annoncé que le contenu de l'intestin enflammé des animaux malades contient des cultures presque pures du microbe, et peut, lorsqu'il est mélangé à la pâtée d'animaux sains, leur donner la maladie. Il revient aujourd'hui sur cette affirmation, qui sous cette forme est trop absolue. Nombreux sont les cas où les animaux ainsi nourris restent bien portants. On s'expliquerait ces irrégularités si ces microbes donnaient des spores, qui, plus résistantes que la forme adulte, pourraient, lorsqu'elles existent, passer par l'estomac sans y être détruites, et causer la maladie. Mais aucun moyen d'investigation ne permet de déceler des spores. Cependant, dit M. Klein, la maladie se transmet bien par le sol souillé de déjections, et non par l'air. Il le montre par une expérience dans laquelle, de deux lots de poules séparés seulement par deux grillages distants de un pied et demi, celles d'un lot peuvent mourir, à la suite d'une inoculation, sans que celles de l'autre soient malades. L'expérience ne semble pas bien concluante. Il semble qu'il aurait fallu, pour prouver la thèse, remettre des animaux sains dans la cage contagionnée par les animaux restés malades ou morts, et comparer la destinée de ce second lot à celle du lot resté dans la cage saine.

Il y a là des traces de travail hâtif. Ce qui vaut mieux, ce sont les recherches sur l'atténuation du virus. Une première série d'études a montré que les animaux qui avaient résisté à une atteinte bénigne de la maladie étaient devenus réfractaires au virus virulent. Il ne s'agissait donc plus que de trouver un vaccin. M. Klein y est arrivé par l'action de la chaleur. Des cultures dans du bouillon alcalin de veau, faites à 37°, ont été chauffées 15 et 20 minutes à 50 et 55°, refroidies ensuite, et inoculées par fractions de 1/8 de centimètre cube à deux lots de poules. Voici les résultats :

Vaccin	chauffé	15min. à 50°	dix	poules	inoculées	8 mortes.
—	—	20min. —	onze	—	—	4 mortes.
—	—	15min. à 55°	huit	—	—	1 morte.
—	—	20min. à 55°	huit	—	—	pas de mortes.

Tous les animaux qui ont survécu à ces expériences ont supporté sans trouble l'inoculation d'un virus très fort.

Dx.

Gösta Grotenfelt. — Sur le lait rouge. *Fortschr. der Medicin*, 1889.

On a quelquefois observé dans les laiteries que le lait devient rouge, et cette circonstance a donné lieu à une infinité de fables et de superstitions. On commence à savoir aujourd'hui la cause du phénomène. Il se manifeste tantôt sous la forme de taches rouges à la surface du liquide, tantôt comme une coloration de toute la masse. Dans le premier cas, il est dû au développement superficiel du *micrococcus prodigiosus*. Dans le second, le microbe actif est presque toujours une bactérie, découverte en 1866 par M. Hueppe, et dont M. Gösta Grotenfelt étudie aujourd'hui la forme et les propriétés.

Le *Bacterium lactis erythrogenes* est un petit bâtonnet, à extrémités arrondies ayant 1,0-1,4μ de longueur sur une largeur de 0,3-0,5μ. Il s'allonge un peu plus dans le bouillon. Il est immobile. On n'a pas observé chez lui, d'une manière nette, la formation de spores.

Sur plaque de gélatine il donne de petites colonies rondes qui passent peu à peu au jaune en liquéfiant la gélatine. Autour d'elles s'étend une tache rose, qui s'agrandit peu à peu. Par piqûre, le développement est lent dans les profondeurs, mais il finit par se faire, toujours avec liquéfaction de la gélatine, et production d'une teinte rose, qui envahit toute la masse, et est beaucoup plus intense quand la culture a eu lieu tout entière à l'obscurité.

Sur gélose, la croissance est moins rapide. Sur pomme de terre les colonies prennent une coloration plus jaune que sur gélatine ; le substratum se colore en jaune rougeâtre.

Dans le lait, il y a une coagulation très faible de la caséine, et on voit au-dessous de la couche de crème une couche de sérum dont la teinte passe peu à peu du rouge sale au rouge de sang. Le dépôt de caséine du fond reste incolore. L'acidité du milieu contrarie un peu cette évolution qui marche d'un pas plus rapide quand le lait est devenu alcalin sous l'influence de la bactérie.

La matière colorante jaune des bactéries, aussi bien que la matière colorante rouge du liquide sont insolubles dans l'éther, le chloroforme et la benzine. La matière rouge donne au spectroscope des bandes intenses d'absorption dans le jaune, le vert. Il y a extinction totale à partir de la raie F.

La bactérie se colore bien par les couleurs d'aniline. Elle semble n'être pas pathogène.

A côté de cette bactérie, M. Gösta Grotenfelt en mentionne une autre étudiée par M. Scholl dans le laboratoire de M. Hueppe à Wiesbaden, et à laquelle son développement, analogue à celui de la bactéridie

charbonneuse sur plaque de gélatine a fait donner le nom de *Bacterium mycoïdes roseum*. Celle-ci ne colore pas le liquide; seules, les colonies prennent une teinte rouge, et cela seulement dans l'obscurité. A la lumière, elles restent blanches. Remises à l'obscurité, elles redeviennent rouges, celles du *bacterium lactis erythrogenes* conservant au contraire à la lumière la teinte vive qu'elles ont prise à l'obscurité.

La matière colorante de cette seconde bactérie est soluble dans l'eau, d'où on peût la retirer par la benzine. Au spectroscope elle donne une seule bande d'absorption dans le vert, et éteint toute la fin du spectre à partir de la raie F. On ne saurait donc la confondre avec la précédente. Il serait curieux d'examiner les relations que peuvent présenter ces bactéries et leurs matières colorantes avec la teinte rouge qu'on a observée et étudiée dernièrement en Italie sur les papillons de vers à soie conservés pour le grainage. J'ai eu autrefois entre les mains de ces papillons dont la matière colorante rouge, soluble dans l'eau et dans l'alcool, se comportait à la façon des couleurs d'aniline. Un travail d'ensemble sur ces diverses matières colorantes d'origine bactérienne serait en ce moment le bienvenu dans la science. Il serait intéressant de savoir si elles sont chacune caractéristique de la bactérie qui la produit, ou si, ce qui est plus vraisemblable, elles forment une série analogue à celle des acides gras, qui se retrouvent les mêmes avec plusieurs bactéries différentes, et ne sont, par suite, caractéristiques d'aucune.

Dx.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de la rage.

Auroux (Gilbert), 28 ans, de Néris-les-Bains (Allier), mordu le 6 juillet 1889, par un chien errant qui a disparu après avoir mordu une quinzaine de chiens, que l'on a abattus. Auroux porte à la joue droite, un peu au-dessous de l'œil, une morsure moyenne ayant bien entamé la peau et donné du sang. La blessure a été fortement cautérisée au thermocautère, une heure après l'accident, par un médecin.

Auroux a été mis en traitement le 9 juillet; il a terminé le 29 juillet. Le 16 août, il ressent les premiers symptômes de la rage (hydrophobie, etc.) et meurt dans la nuit du 18 au 19 août, à 3 heures du matin. (Lettre du Docteur Peyrot, de Néris-les-Bains.)

Trottet (Gabriel), 13 ans, demeurant rue Duméril, 27, à Paris. Mordu le 23 mai 1889 à la partie inférieure du mollet droit. L'enfant Trottet porte deux morsures très fortes et très pénétrantes; l'une d'elles est de la dimension d'une pièce de 5 francs; elle a un centimètre et demi environ de profondeur. La plaie a été lavée à l'eau phéniquée 3/4 d'heure après la morsure. M. Boissière, médecin-vétérinaire à Paris, n'ayant pu se prononcer sur la rage du chien à l'autopsie, a adressé la tête à l'Institut Pasteur. Un cobaye inoculé avec le bulbe de l'animal mordeur, a pris la rage le 18e jour.

Trottet a subi le traitement à l'Institut Pasteur du 25 mai au 8 juin. Il a ressenti les premiers symptômes de la rage le 11 juillet et est mort le 14 juillet.

Deux autres personnes mordues par le même chien, et traitées à l'Institut Pasteur sont actuellement en bonne santé.

Personnes prises de rage dans le cours du traitement.

Yorke (Claude), 7 ans, de Tadcaster (Angleterre), mordu le 5 août 1889 par un chien errant qui a été abattu, après avoir mordu deux autres enfants, et deux chiens. Le docteur Pickerogill a déclaré le chien suspect de rage à l'autopsie.

L'enfant Yorke porte 4 blessures : 1° une forte morsure à la lèvre supérieure; une partie de la lèvre a été détachée et a dû être recousue par le médecin; 2° 2 morsures assez fortes sur le côté droit du nez; 3° Une morsure au bras droit; la manche a été complètement déchirée.

Aucune cautérisation n'a été faite.

Mis en traitement le 9 août, Yorke refuse de boire et de manger dès le 26 août; le 28 août, il présente les symptômes d'hydrophobie et d'aérophobie; il meurt le 31 août à l'hôpital des enfants malades.

Un autre enfant, grièvement mordu à la tête, par le même chien, a subi le traitement complet; il est actuellement en bonne santé.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE [1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — AOUT 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	»	1	»	3	8	»	2	2
— multiples	»	1		»	5		»	»	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	1	»	»	2	»	»	1	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	6	»	»	1	»	»
Morsures aux mains — simples	»	7	10	»	25	49	»	9	19
— multiples	»	3		»	24		»	10	
Cautérisations efficaces	3	»	»	4	»	»	3	»	»
— *inefficaces*	3	»	»	25	»	»	6	»	»
Pas de cautérisation	4	»	»	20	»	»	10	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	1	2	»	16	37	»	8	12
— multiples	»	1		»	21		»	4	
Cautérisations efficaces	»	»	»	8	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	1	»	»	16	»	»	4	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	13	»	»	7	»	»
Habits déchirés	2	»	»	33	»	»	11	»	»
Morsures à nu	»	»	»	4	»	»	1	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	2	2	»	3	3	»	»	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	1	»	»	3	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	»	»	»	»	»	»
Habits déchirés	2	»	»	3	»	»	»	»	»
Morsures à nu	2	»	»	3	»	»	»	»	»
Totaux. — Français et Algériens	..	10	15	..	65	97	..	28	33
— Etrangers	..	5		..	32		..	5	
		A			B			C	
TOTAL GÉNÉRAL					145				

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 136 fois ; chats, 8 fois ; âne, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. OCTOBRE 1889. N° 10

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

ACTION DE LA CHALEUR SUR LES LEVURES

Par M. E. KAYSER,

Chimiste au laboratoire des fermentations de l'Institut agronomique.

Tous les savants qui étudient les espèces bactériennes se sont préoccupés de savoir quel est leur degré de résistance à l'action de la chaleur, à quelle température elles périssent à l'état végétatif ou à l'état de spores. Au point de vue scientifique, on trouve dans cette recherche des moyens de caractériser diverses espèces, ou au moins de les distinguer les unes des autres ; au point de vue pratique, on y trouve le moyen de les isoler, de séparer par exemple dans un mélange celle qui peut supporter sans périr la température la plus élevée. C'est ainsi, par exemple, qu'on retire le *bacillus subtilis* de l'infusion de foin. L'hygiène tire à son tour profit de ces notions pour savoir à quelle température il faut porter les objets qu'on veut stériliser pour les débarrasser de tout germe de microbe, et il est superflu de rappeler ici toutes les récentes conquêtes de la science à ce sujet, les différences, par exemple, que présentent, à ce point de vue, le chauffage à l'état sec et le chauffage à l'état humide.

Cependant, quand on envisage cette question d'un peu près, on se convainct bien vite que tout y est encore un peu incertain et contingent. Les divers observateurs ne s'accordent pas toujours entre eux, même lorsqu'ils paraissent avoir fait leurs expériences

dans les mêmes conditions, s'être servis, par exemple, des mêmes liquides qu'ils ont chauffés pendant le même temps. Une partie des différences observées vient sûrement de ce que, sous ces apparences d'uniformité de température ou de durée de chauffage, il y a place pour des variations notables dans l'action de la chaleur. Ce sont évidemment les températures les plus élevées, voisines de la température limite, qui sont les plus actives, et celles-ci, l'essai soumis au chauffage ne les subit pas nécessairement pendant le même temps. Suivant que le volume de la liqueur d'essai est plus ou moins grand par rapport à celui du bain où on la plonge, qu'elle est contenue dans un verre plus ou moins grand ou plus ou moins épais, que l'évaporation est plus ou moins facile à sa surface, qu'elle est plus gélatineuse ou plus fluide, qu'elle renferme ou non des zooglées dont tous les points ne subissent pas la même impression, elle peut être plus ou moins longtemps exposée à l'action des températures extrêmes, et l'effet *physiologique* total peut varier beaucoup.

Encore nous sommes-nous supposés ici dans les meilleures conditions d'un chauffage régulier. On peut à la rigueur suivre, noter de moment en moment, et apprécier assez exactement la température d'une liquide chauffé; mais quand on opère à sec, quand on cherche par exemple le degré de résistance à la chaleur d'une poussière de germes, les chances d'indécision dans les expériences et d'incertitude dans les résultats augmentent beaucoup. Qu'est-ce que la température d'un corps sec d'aussi faible volume? Qu'est-ce que la température d'une spore isolée en un point de la paroi? On ne le sait, et pourtant il suffira peut-être de cette seule spore, restée vivante par suite d'une circonstance quelconque, pour peupler le liquide dans lequel on fera l'ensemencement pour savoir s'il y a encore quelque chose de vivant. Si pour échapper à cette cause d'erreur, on emploie la méthode des cultures sur gélatine, on en rencontre une autre plus grave, c'est que beaucoup de microbes, affaiblis sinon tués par le chauffage, refusent de se développer sur la gélatine, alors qu'ils peuplent facilement un bon liquide nutritif.

Aussi ai-je cru qu'il n'était pas inutile de reprendre la question, non pas pour la renouveler, car il est clair que, même avec les causes d'erreur que nous venons d'énumérer, nous connaissons les lignes générales du problème, mais pour essayer, en préci-

sant davantage les conditions du chauffage, de mettre en évidence certaines influences restées dans l'ombre jusqu'ici.

Travaillant dans un laboratoire voué à l'étude des fermentations alcooliques, j'ai naturellement pris comme sujet d'étude les levures, au sujet desquelles la science ne possède du reste que quelques résultats encore plus contradictoires et plus incertains que pour beaucoup d'autres microbes. C'est ainsi que Hoffmann[1] place entre 76° et 83° la température à laquelle périt la levure chauffée à l'état humide. Wiessner[2] la fixe à 66°,5 quand la levure est fraîche, à 2 ou 3 degrés plus haut, quand on l'a laissée pendant quelques jours s'épuiser dans l'eau. Mme Manassein [3], qui a travaillé dans le laboratoire de M. Wiessner, indique comme mortel un chauffage d'un quart d'heure à 70-72°. En regard de ces chiffres élevés, on trouve dans un mémoire de M. Duclaux *sur la durée de la vie chez les germes des microbes*[4] des évaluations beaucoup plus modestes, car l'action d'une température de 38° sur de la levure l'a tuée au bout de 48 heures. La levure était vieille, il est vrai, ou du moins était le résultat du rajeunissement récent de la levure vieille, et nous verrons bientôt que cela peut avoir de l'influence, mais il n'en reste pas moins des dissemblances notables entre ces divers résultats.

Avec la levure chauffée à l'état sec, ces dissemblances sont encore plus grandes. La pratique courante des laboratoires nous prouve qu'il n'y a plus rien de vivant dans un vase dont les parois ont été portés à 180°, et cependant la levure peut résister à 215° d'après M. Hoffmann, et même à 258°, d'après Mme Manassein, sans périr.

Je ne m'attarderai pas à rechercher les diverses causes d'erreur qui ont pu intervenir dans ces expériences, et dont la principale est, sans doute, la difficulté d'évaluer les températures réelles des divers globules de levures. Je veux dire seulement les précautions que j'ai prises pour me mettre à l'abri de celles de ces causes d'erreur que j'ai pu deviner. Quant aux autres, je dirai, une fois pour toutes, que mes expériences ont toujours été comparatives, et que j'ai fait tout mon possible pour que si une cause d'erreur est

1. Sur l'histoire naturelle de la levure. *Bot. Untersuch.* et *Bot. Zeitung*, 1869.
2. *Mikroskop. Untersuch.* Stuttgard, 1872.
3. Contributions à la connaissance de la levure. *Id.*, 1871.
4. *Ann. de ch. et de phys.* 6e S., t. V, 1885.

intervenue dans un de mes essais, elle fut la même pour les autres essais de la même série. Je crois donc que les nombres qu'on trouvera plus bas sont bien comparables les uns avec les autres.

Le premier point à viser était de n'opérer qu'avec des espèces pures, pour se mettre à l'abri des différences que peuvent éventuellement présenter les diverses levures vis-à-vis de l'action de la chaleur. Pour cela j'ai recherché dans la *pale ale* de Bass et C[ie], et dans les bières de l'*Augustinerbraü*, du *Hofbraü*, et du *Spatenbraü* de Munich, les levures caractéristiques de ces bières, et je me suis assuré que ces levures donnaient aux moûts qu'elles faisaient fermenter les qualités physiques, chimiques, et organoleptiques de la bière mère. J'ai ajouté à ces levures une levure de vin de Saint-Emilion, qui m'a été donnée par M. Reclus, et un *Saccharomyces Pastorianus* tout à fait authentique, attendu qu'il provenait d'un ballon ensemencé en 1873, par M. Pasteur lui même, au moment où il s'occupait de cette levure, et sous le nom qu'il lui donnait alors. La pureté de cette levure a tout récemment été démontrée par M. Duclaux[1].

Venait ensuite la question du mode de chauffage. Pour le chauffage à l'état humide, je me suis servi de tubes à essai assez étroits, effilés en outre à leur partie inférieure, de façon à s'allonger en un petit tube de 1 ou 2 millimètres de diamètre. Ces tubes, fermés par un tampon de coton et stérilisés à l'avance, recevaient dans leur effilure quelques gouttes du liquide à éprouver, et subissaient 5 minutes d'immersion dans un bain-marie, très volumineux par rapport à la petite quantité du liquide en expérience, et porté à des températures échelonnées de 5° en 5°. J'ai choisi cette durée de 5 minutes de façon à diminuer la cause d'erreur provenant des incertitudes de la première période du chauffage. L'effilure du tube rendait évidemment la communication de la chaleur très rapide, et l'inégalité possible de durée de la première période du chauffage avait d'autant moins d'importance que la durée totale du chauffage était plus longue. Sitôt les cinq minutes écoulées, on retirait les tubes et on les plongeait de suite dans l'eau froide.

Pour le chauffage à l'état sec j'ai suivi deux procédés diffé-

1. Voir ces *Annales*, t. III, p. 382.

rents : le premier consiste à puiser à l'aide de pipettes effilées et stériles quelques gouttes de la levure à essayer, et à les laisser couler au fond d'un tube flambé, fermé par un tampon de coton. La dessiccation se faisait ensuite soit à l'air libre, soit en présence d'acide sulfurique, ou encore en plongeant les tubes dans un bain-marie maintenu constamment entre 40 et 50°. D'autres fois les tubes étaient desséchés à l'étuve à une température de 22 à 25°. Après dessiccation complète, les tubes étaient portés pendant 5 minutes dans un bain de glycérine chauffé aux températures que je voulais essayer, retirés et plongés immédiatement dans l'eau à la température ordinaire.

Dans chacun de ces tubes on introduisait du moût stérile (eau de touraillons sucrée, neutre ou acide, eau de navets sucrée, eau de malt).

C'est là l'ancienne méthode suivie. Elle laissait à désirer et donnait lieu à une objection grave. On n'était nullement sûr, à cause de la mauvaise conductibilité du verre, que la température intérieure du tube fût celle indiquée par le thermomètre plongeant dans le bain de glycérine, ou dans l'intérieur du tube, et il pouvait parfaitement se faire que tel ou tel globule échappât à la température décisive pour l'expérience, et donnât lieu à une fermentation.

Ceci explique pourquoi les chiffres fournis par cette méthode se sont trouvés, en général, un peu supérieurs à ceux indiqués par une seconde méthode, où l'on est beaucoup plus sûr de la température.

Dans cette méthode, on stérilise, en la passant dans la flamme, une petite spirale de platine, suspendue à l'effilure d'une baguette de verre. On la plonge ensuite dans le matras Pasteur contenant la levure ou les spores à étudier, et on la fait tomber dans un tube fermé par un tampon de coton et stérilisé. La dessiccation se fait à l'air libre ou à l'étuve.

Pour le chauffage, on se sert encore du bain de glycérine. Dans ce bain plonge un petit tube en U analogue à celui qui sert à l'analyse du lait d'après la méthode de M. Duclaux.

La plus grosse branche du tube est fermée par un bouchon en caoutchouc à deux tubulures portant, l'une un thermomètre, et l'autre un tube recourbé, mis en communication avec une trompe à eau à faible débit. L'autre branche, beaucoup plus fine, servait

à un appel d'air qui se desséchait d'abord en passant dans un flacon à acide sulfurique, s'échauffait en descendant dans la branche mince de l'U et rencontrait en remontant une toile métallique sur laquelle reposait la spirale de platine chargée de semence. La conductibilité et la faible chaleur spécifique du platine assurait dans la mesure du possible l'égale répartition de la chaleur entre les cellules réparties sur la surface du fil, et l'égalité de température entre le fil et l'air.

Après 5 minutes de chauffage à une température maintenue aussi constante que possible par le jeu plus ou moins accéléré de la trompe, on retirait la spirale avec un fil de platine, et on l'immergeait immédiatement dans un liquide nutritif stérile, formé presque toujours d'eau de touraillons sucrée et neutre. Il ne reste plus qu'à examiner si le liquide ainsi ensemencé se peuple ou reste stérile ; mais il faut ne pas se hâter de conclure, car ce n'est quelquefois qu'après quelques jours que la levure finit par triompher de l'affaiblissement produit par l'action de la chaleur.

Cela posé, voici, brièvement résumés, les résultats de mes expériences sur les points que j'ai étudiés. Je n'en indiquerai que quelques-unes, car, autant par méfiance pour moi-même que pour les difficultés du sujet, je les ai beaucoup multipliées, et j'en ai fait plus d'un millier. Je n'ai accepté comme bonnes que celles qui se trouvaient concordantes dans plusieurs essais successifs.

I. — *Chauffage à l'état humide.*

J'ai fait, dans les mêmes conditions, des essais de chauffage à l'état humide des levures à l'état de globules, prises de préférence à la fin de la fermentation dans des matras Pasteur, où le liquide sucré était en faible épaisseur, et des spores de ces mêmes levures, obtenues, par la méthode de M. Duclaux, en ensemençant de la levure jeune dans une solution de lactose additionnée de traces de bouillon Liebig et d'un peu de craie. Ces levures provenaient d'une culture dans l'eau de touraillons sucrée, ou de l'eau de navets sucrée, ou de l'eau de malt.

Dans les tableaux qui suivent, la lettre D indique qu'il y a eu développement. Deux fois répétée, elle dit que les deux matras sur lesquels on faisait chaque fois l'expérience se sont montrés

tous les deux féconds. Le signe — indique que l'un d'eux, ou tous les deux sont restés stériles.

	T.	45°	50°	55°	60°	65°
Levures . . .	Bass.	DD	DD	DD	DD	——
	St-Émilion . .	DD	DD	DD	——	——
	Augustinerbr .	DD	D—	——	——	——
	Hofbraü	DD	DD	——	——	——
	Spatenbraü . .	DD	DD	——	——	——
	Neunkirchen .	DD	DD	DD	DD	——
	Sacch. Past. .	DD	D—	——	——	——
Spores	Bass.	DD	DD	DD	DD	D—
	St-Émilion . .	DD	DD	DD	DD	——
	Augustinerbr .	DD	DD	DD	DD	——
	Spatenbraü . .	DD	DD	DD	——	——
	Sacch. Past. .	DD	DD	DD	——	——

On voit sur ce tableau que toutes les levures ne semblent pas avoir la même faculté de résistance à la chaleur. Les levures de bières de Munich paraissent sous ce point de vue être plus fragiles que la levure de l'ale anglaise, ou la levure de vin de Saint-Emilion. Il en est de même du *Sacch. Pastorianus*. Il faut noter que la majorité des levures peu résistantes à la chaleur est faite de levures basses. De nouveaux essais diront ce qu'il peut y avoir de général dans cette notion.

De plus, en majorité, les limites de résistance, trouvées dans ces essais, sont inférieures à celles qu'avaient fixées Hoffmann, Wiessner, et Mme Manassein. J'attribue ce fait à ce que j'étais plus sûr de la température, car, dans les expériences antérieures, les durées du séjour à la chaleur ont été souvent plus grandes que dans mes expériences.

Quant aux spores, on voit que la température à laquelle elles peuvent résister dépasse presque partout de 5° celle à laquelle périssent les globules. La différence est même de 10° pour l'*Augustiner*. Ces différences sont inférieures à celles auxquelles on était en droit de s'attendre, d'après celles qu'on relève dans l'étude des bacilles et de leurs spores. Nous allons voir du reste tout à l'heure qu'elles sont plus grandes à l'état sec.

J'avais essayé de voir quelle est l'influence, sur le développement ou le non développement des levures ou de leurs spores,

du milieu où on les ensemence après le chauffage. J'y étais encouragé par une observation de M. Duclaux, qui a vu (*loc. cit.*) que le liquide d'ensemencement doit être à peu près neutre. J'ai constaté l'exactitude de ce fait, mais, quant à mesurer par des nombres précis l'influence d'un excès d'acide, je n'y suis pas parvenu. Il arrive quelquefois, bien que rarement, qu'un milieu légèrement acidulé rajeunit aussi bien les levures qu'un liquide neutre. Avec des doses d'acide plus fortes, le rajeunissement est plus difficile, mais on superpose alors une action nouvelle à celle qu'on veut étudier, et je n'ai pas insisté.

II. — *Chauffage à l'état sec.*

Au lieu de citer ici les très nombreuses séries d'expériences que j'ai faites sur ce sujet, je donnerai les limites de résistance observées pour ces levures dans différents essais, tous faits par la méthode des spirales de platine. Ces limites sont plus larges que dans les chauffages à l'état humide, parce que les incertitudes de température sont en somme plus grandes, et ce serait fausser la vérité que de supprimer arbitrairement les essais dans lesquels la résistance a été la plus faible. On ne peut même pas dire que les causes d'erreur dans l'évaluation de la température donnent plus de poids au chiffre supérieur qu'au chiffre inférieur, car rien n'assure que la température du fil de platine soit toujours inférieure ou toujours supérieure à celle de l'air dans laquelle plonge le thermomètre ; il peut y avoir des surchauffes locales qui influencent le fil sans influencer d'une façon sensible le mercure de la boule thermométrique. Tout ce qu'on peut faire est de tâcher de serrer étroitement les limites, et de donner simplement les chiffres trouvés ; c'est ce que je fais dans le tableau suivant.

	Levures.	Spores.
Bass	95° — 105°	115° — 125°
St-Émilion	105° — 110°	125°
Augustinerbr.	»	115° — 120°
Hofbraü	85° — 90°	»
Spatenbraü.	100° — 105°	115°
Sacch. Past	100° — 105°	115°

On voit que la résistance au chauffage à sec de ces diverses levures est très variable. L'*Augustiner* est même des plus fragiles ;

non seulement elle ne supporte pas le moindre chauffage après dessiccation, mais elle ne résiste même pas quelquefois à la dessiccation à la température ordinaire. La levure de Hofbraü et de Spatenbraü sont aussi très peu résistantes, cependant elles le sont beaucoup plus qu'à l'état humide. La plus résistante est la levure de Saint-Émilion.

Les spores sont aussi très inégalement résistantes, sans que pourtant elles se rangent dans le même ordre que les levures correspondantes. Ainsi les spores de l'*Augustiner* sont très résistantes. Pourtant c'est encore celle de Saint-Émilion (levure haute) qui tient la tête. Pour elle la différence des températures mortelles pour la spore et le globule est de 15° à 20°. Il en est de même pour quelques autres ; mais cette différence est beaucoup plus grande pour l'*Augustiner*. En somme, on voit que nous avons eu raison d'opérer sur des levures pures. Des mélanges comme ceux sur lesquels on a opéré jusqu'ici, nous auraient laissés dans une complète indécision.

Il est intéressant de mettre en présence de ces résultats ceux qu'on obtient par la première méthode de chauffage que j'ai décrite, et dans laquelle la dessiccation se faisait sur la paroi de tubes flambés. Dans la série A, la dessiccation est faite à la température ordinaire, dans une atmosphère desséchée par l'acide sulfurique. Dans la série B, elle a été faite à l'étuve à 25°-30°, et à 40°-50° dans la série C.

	Série A		Série B		Série C	
Températures.	120°	— 125°	120°	— 125°	120°	— 125°
Levures de Bass. . . .	DD	DD	DD	D—	D—	——
Spores.	périssent au delà de 130°, uniformément.					

On voit, en comparant ces résultats à ceux qui précèdent, que les différences sont assez sensibles en ce qui concerne les globules, et qu'elles sont bien dans le sens prévu, la température ayant été évaluée beaucoup plus haut dans la dessiccation sur les parois du tube qu'avec les spirales de platine. La différence est encore dans le même sens, mais moins grande pour les spores. On s'explique par là, en partie, les variations des nombres trouvés par les divers expérimentateurs, mais dans un cas comme dans l'autre, nous sommes très loin des chiffres donnés par Hoffmann et par Mme Manassein.

On voit en outre par les résultats qui précèdent, et qui sont comparatifs entre eux, ce que montre du reste leur régularité, que la levure résiste d'autant mieux à la chaleur qu'elle a été desséchée à température plus basse. C'est ce qu'on savait déjà au sujet de divers animaux, par exemple des rotifères, mais ce qu'il est intéressant de retrouver pour les *saccharomyces*.

III. — *Influence de l'âge.*

L'état de vieillesse de la levure a-t-il quelque influence sur son degré de résistance à la chaleur ? c'est ce que j'ai été amené à soupçonner dans divers essais que je ne relaterai pas, parce que j'ai eu la bonne fortune de pouvoir étudier cette question sur une levure datant de 15 ans, le *Saccharomyces Pastorianus* dont j'ai parlé plus haut. Cette levure était encore vivante : il était facile de la rajeunir et de la comparer à la culture jeune, au point de vue de sa résistance à la chaleur. Voici les résultats de l'une des expériences faites, ils concordent avec tous les autres. La levure vieille avait été diluée dans de l'eau distillée stérile.

	45°	50°	55°	60°
Sacch. pastor. jeune. . . .	DD	D—	——	——
Id. id. vieux. . . .	DD	DD	DD	——

Ainsi la levure vieille supporte sans périr 5 à 10° de plus de chaleur que l'autre. Cette augmentation de résistance est graduelle. On en observe sporadiquement des cas en opérant sur des levures âgées de quelques mois, mais elle est lente, et il y a tout de suite à se demander d'où elle vient.

En constatant que la levure vieille a atteint le degré de résistance des spores de cette même levure, on pourrait penser qu'à force de vieillir dans son liquide nutritif, elle a fini par y donner des spores dont la résistance explique la sienne. Il est difficile de s'assurer de la réalité de cette explication par un simple examen microscopique. On voit, il est vrai, dans beaucoup de globules, des masses rondes ressemblant aux spores, mais qui sont souvent reconnaissables comme des granules gras, beaucoup plus abondants que dans une levure jeune. Ce sont ces matières grasses que M. Duclaux a étudiées récemment. En tenant compte de cette cause d'illusion, les globules à spores sont très rares, si

rares qu'ils passent souvent inaperçus. Un examen microscopique soigneux permet pourtant d'ordinaire d'en reconnaître, et, comme il suffirait à la rigueur qu'il n'y en eût qu'un pour peupler le liquide d'ensemencement, on resterait perplexe si l'on ne trouvait pas un argument dans les résultats du chauffage à sec.

Les spores résistent, nous l'avons vu, assez fortement à ce mode de chauffage : or la levure vieille meurt par simple dessiccation à l'air libre, tandis que la levure jeune résiste à 100-105°, comme nous l'avons vu, et ses spores de 110° à 115°.

L'état de vieillesse diminue donc le degré de résistance à sec. J'ai trouvé un effet analogue avec les spores. Des spores jeunes de la levure de Bass se développent encore après un chauffage à sec à 120°, parfois même après un chauffage à 125°. J'ai vu au contraire des spores âgées de 8 mois ne jamais résister au delà de 115°. De nouveaux essais, faits de loin en loin, me diront si cette diminution de résistance est continue et régulière.

IV. — *Influence de l'origine.*

J'arrive enfin à un point plus délicat, l'étude des influences héréditaires. Il est admis de tous, bien que la démonstration n'en ait pas encore été donnée, au moins à ma connaissance, que la levure qui provient du développement des spores est identique à la levure qui a fourni les spores, absolument comme l'être qui sort d'un œuf est identique à celui qui l'a produit. Avant d'entrer dans l'examen de cette question, qui ne me semble pas résolue d'avance, j'ai voulu comparer entre elles les levures qui avaient fourni des spores et celles qu'on obtenait par réensemencement des mêmes spores portées à la température la plus haute qu'elles puissent supporter. J'ai même fait de nouvelles spores avec les levures de seconde génération ainsi obtenues par un premier passage à travers la spore chauffée, et j'ai comparé entre eux, et les uns avec les autres, ces deux lots de levures et ces deux lots de spores. Les résultats obtenus ont été assez variables suivant le mode de chauffage.

Prenons d'abord le chauffage à l'état humide. Avec la levure d'*Augustiner* et de *Spatenbraü*, je n'ai pu relever aucune différence constante entre les levures normales et celles qui provenaient de

la revivification de spores chauffées à 116°. Ces levures périssent vers 50° et leurs spores vers 55°. Une levure de Saint-Emilion, provenant de spores ayant résisté à 120°, a résisté à plusieurs reprises à 60°, tandis que la levure normale meurt à 55°. Mais quand on a ramené à l'état de spores, cette levure provenant de spores chauffées, on a vu que la résistance de ces spores n'était pas supérieure à celle des spores normales. Même résultat pour la levure de Bass, revivifiée de spores ayant résisté à 130°, et qui a pu résister à 65°, tandis que ses spores retombaient au degré de résistance des spores normales.

Pour le *Saccharomyces pastorianus* il y a une augmentation de 5° dans la résistance, tant des levures regénérées de spores chauffées que dans les spores provenant de ces levures.

Ainsi, pour quelques-unes de ces levures, les globules provenant de spores chauffées se sont montrés un peu plus résistants que les globules normaux, mais cette résistance ne se perpétuait pas dans la spore. Elle ne se perpétuait pas non plus dans les globules de seconde génération provenant d'un ensemencement direct, dans du moût de bière, des globules plus résistants provenant des spores chauffées.

On s'explique assez bien qu'il en soit ainsi. Il y a, quand la fermentation est terminée, dans le matras où on a ensemencé les spores chauffées, plusieurs générations de globules dont les premières doivent sans doute à leurs ascendants directs une certaine adaptation aux effets de la chaleur, mais dont les dernières, de même que celles qui en proviennent par un ensemencement nouveau, n'ont plus aucun souvenir du traitement auquel leurs ascendants éloignés ont été soumis. En somme, dans les diverses générations d'une même culture, comme dans les cultures successives d'une même semence, l'impression de la chaleur est fugitive, bien qu'elle existe, et elle est bientôt effacée.

Arrivons maintenant, pour terminer, au chauffage à l'état sec. Ici les résultats sont plus marqués, bien qu'analogues à ceux qui précèdent.

Nous avons vu la levure de Bass résister jusqu'à 95°-105°, et ses spores jusqu'à 115°-125°. Cette même levure, après passage par des spores ayant résisté à 130°, a pu supporter impunément un chauffage à 110°-115°, et ses spores résister à 125°.

La levure de Saint-Émilion périt entre 105° et 110°, et ses

spores à 125°. Après passage par des spores chauffées à 125°, la levure a pu supporter un chauffage à sec à 115°, ses spores continuant à périr à 125°.

L'*Augustiner* est plus curieuse. A l'état normal, nous savons que cette levure ne peut guère supporter la dessiccation sans périr, Après passage au travers de spores ayant résisté à 116°, la levure rajeunie supporte, au contraire, assez facilement la dessiccation et le chauffage à sec, attendu qu'elle ne périt qu'entre 85-90°. Je me suis bien assuré, par des comparaisons répétées, que ce résultat singulier n'était pas dû au mélange, avec la levure d'Augustiner, d'une autre levure en petite quantité qui aurait résisté après la mort de l'*Augustiner*, et se serait seule développée après chauffage à sec. Les spores de cette levure régénérée d'*Augustiner* meurent à 125°.

On voit, en résumé, qu'au point de vue de l'action de la chaleur, il est difficile d'imprimer sur ces levures, depuis longtemps arrivées à l'état fixe comme races, de nouvelles influences héréditaires durables. En serait-il de même pour les milliers de levures, vagabondes comme habitat, qu'on trouve dans la nature? Ne se prêteraient-elles pas mieux à une éducation dans un sens déterminé? C'est une question trop importante pour que je songe à l'aborder ici. J'espère pouvoir l'étudier bientôt.

SUR LES FORMES MIXTES

DE LA TUBERCULOSE DES ARTICULATIONS

Par le Dr A. D. PAWLOWSKY.

Professeur de pathologie chirurgicale à l'Université de Kiew.

Chez les malades atteints de maladies infectieuses générales dont l'étiologie est aujourd'hui bien connue, on a souvent l'occasion d'observer des complications qui viennent s'ajouter à la maladie principale. Tels sont les accidents locaux qui sont dus à ce que le virus se cultive dans un tissu ou dans un organe qu'il n'envahit pas d'ordinaire, ou encore à ce qu'un autre virus est entré dans l'organisme grâce aux lésions causées par le premier. D'autres fois les complications ont pour cause la pénétration simultanée dans le corps de microbes pathogènes différents, qui évoluent en même temps, en produisant une infection mixte dont les symptômes diffèrent de ceux des deux infections séparées.

Ces formes mixtes des maladies infectieuses ont d'abord été étudiées en médecine. Il nous suffira de rappeler qu'en 1864 le professeur Botkine faisait une analyse précise du typhus abdominal compliqué de typhus récurrent, de typhus exanthématique ou de fièvre intermittente. Une complication bien connue de la scarlatine est la diphtérie qui survient souvent dans le cours de cette fièvre éruptive. Les infections mixtes sont fréquentes aussi en chirurgie, et Pirogoff, par exemple, a pu décrire toute une série de pyémies complexes, et distinguer jusqu'à 7 catégories de septicémies. Toutes ces formes diverses existaient du temps de Pirogoff et il est évident qu'elles avaient pour cause la pénétration de plusieurs microbes dans l'organisme du malade [1].

1. Pirogoff. *Natchala obstchei woennopolewoi chirurgii.* Dresden, 1865, p. 244-275 et 415-441.

Aujourd'hui, grâce à l'antisepsie, ces affections compliquées ont disparu et il est probable que nous ne les reverrons plus. Cependant les chirurgiens actuels ont encore à lutter contre des infections mixtes; dans certains cas de syphilis, on observe une fièvre rapide qui n'est pas causée par le virus syphilitique, mais bien par un virus surajouté, et dont l'action, jointe à celle du premier, donne lieu à des phénomènes d'une gravité particulière. De même, les cystites, les périmétrites, les pyélonéphrites qui suivent les blennorrhagies, sont le plus souvent dues à l'action des microbes étrangers qui ont pullulé à la suite du gonocoque.

L'étiologie de ces infections mixtes, c'est-à-dire l'étude des microbes qui les causent, est très intéressante, mais n'est que commencée. Dès 1884, M. Koch [1] a montré que dans les poumons tuberculeux le bacille spécifique est souvent mélangé de microbes étrangers. Rosembach [2] a trouvé dans la pyémie des streptocoques associés à des staphyloccoques. MM. Kossowitch [3], Hochsinger, Chosten [4], D'outrelepont [5] ont rencontré des streptocoques chez les enfants syphilitiques qui succombent avec une fièvre aigüe. M. Bumm [6] attribue à la pénétration de microbes pyogènes les abcès, les cystites, les parotidites, les périmétrites que l'on observe après l'uréthrite : ce sont, pour lui des infections mixtes.

Dans les affections tuberculeuses des articulations, les chirurgiens ont souvent affaire à des infections mixtes. Les synovites tuberculeuses qui s'accompagnent de fièvre violente, de gonflement des parties environnantes, de fistules avec suppuration, sont de ce nombre. En 1887, lorsque j'étais à Paris au laboratoire de M. Pasteur, j'ai eu l'occasion d'examiner des fongosités articulaires enlevées dans les services de MM. Lannelongue, Lucas-Championnière et Péan. Dans un cas je rencontrai dans ces masses

1. Koch. *Uber die Ætiologie d. Tuberculose. Mitth. aus K. Gesundtsamte*, Bd. II, 1884.

2. Rosembach. Mikroorganismen bei den Wundinfectionskranheiten des Menschen. Wiesbaden, 1884.

3. Kossowitch. *Wien. med. Blätter*, IX, 1886, 1, 2, 3.

4. Chosten. *Tageblatt des 59 Versamml. deutschen Naturfors. und Aerzte*, p. 293, et *Vierteljahrsschr. für Dermat. und Syph.*, 1887, 1, p. 109.

5. D'outrelepont. *Centralbt. fur bacteriol.*, 1887, II Bd., 13, 369.

6. Bumm. 60 *Versamml. deutsch. Naturforscher u. Aerzte* in Wiesbaden. Ueber die gonorrhoische mischinfectionen beim Weibe.

rongueuses non seulement des bacilles tuberculeux, mais aussi des streptocoques. L'inoculation d'un peu de ces fongosités, pratiquée dans l'articulation du genou sur deux lapins, amena des synovites fongueuses, avec suppuration abondante et gonflement des articulations. En ensemençant un peu des produits des articulations malades, on obtenait une culture de streptocoques. Onze jours après le début de l'expérience, un lapin fut sacrifié par le chloroforme, et nous pûmes constater sur la synoviale des masses fongueuses contenant des streptocoques. Le second lapin fut sacrifié le seizième jour; son articulation renfermait le même microbe.

A l'examen de granulations fongueuses qui provenaient d'une articulation tuberculeuse (cas de récidive après résection du coude), nous avons trouvé, outre de rares bacilles tuberculeux, un autre bacille à bouts arrondis, beaucoup plus abondant, qu'il fut facile d'obtenir à l'état de pureté en faisant des ensemencements sur sérum. Des lapins inoculés avec ces cultures pures succombèrent, après onze et quinze jours, à une infection généralisée. Les organes internes renfermaient le microbe inoculé. Ces exemples montrent que dans les fongosités articulaires, il existe parfois d'autres microbes pathogènes associés aux bacilles tuberculeux. Ces tuberculoses articulaires étaient donc des infections mixtes.

De retour en Russie, j'ai pu observer des cas analogues. Pendant l'automne de 1888, à la clinique de mon cher maître le défunt professeur Bogdanowsky, j'ai vu des tuberculoses articulaires avec fistules et destruction des tissus environnants. Les malades étaient dans un état d'affaiblissement général, et ils présentaient une fièvre continue avec exacerbations. Dans le premier de ces cas, l'articulation du genou avait d'abord été atteinte et s'était guérie avec une attitude vicieuse du membre; plus tard les deux articulations tibio-tarsiennes furent prises à leur tour. Dans le second cas, la tuberculose avait récidivé après résection du genou; le troisième tout à fait semblable au précédent se termina par la mort. Une autrefois la tuberculose siégeait à l'articulation de l'épaule et récidiva après un grattage. J'ai pu recueillir quatre autres observations semblables, et dans ces huit cas les granulations fongueuses ont été examinées au microscope et ensemencées sur des milieux nutritifs; deux fois on fit en

outre des cultures avec le pus des fistules. En procédant ainsi, outre le bacille de la tuberculose, j'ai trouvé 3 fois le *streptococcus pyogenes*, 1 fois le *staphylococcus aureus* et une fois le *bacillus pyocyaneus*.

Avec ces divers microbes je fis les expériences suivantes. A un premier lapin j'injectai, dans l'articulation du genou, une culture pure de tuberculose ; à un second une culture de tuberculose mélangée à du *staphyloccoccus aureus;* à un troisième le bacille tuberculeux associé au *streptococcus pyogenes;* et enfin à un quatrième lapin du bacille pyocyanique mêlé à celui de la tuberculose.

Le lapin qui devint le plus rapidement malade fut celui qui avait reçu les bacilles tuberculeux et pyocyaniques. Dès le 12ᵉ jour il avait succombé, et à l'autopsie on trouva de la suppuration dans l'articulation, et des tubercules gris disséminés dans les poumons. Le pus de l'articulation contenait du bacille pyocyanique.

Chez le second lapin (tuberculose et staphylococcus), l'articulation avait le neuvième jour le volume d'une noix, et au bout d'un mois celui d'une grosse pomme. Il mourut après 52 jours, l'articulation était remplie de pus et de masses caséeuses.

Le troisième animal (tuberculose et streptococcus) eut une tuberculose de l'articulation avec généralisation aux poumons, aux reins.

Le lapin de contrôle, qui avait reçu dans l'articulation la culture pure de tuberculose, succomba après trois mois et trois jours à une tuberculose miliaire généralisée, aux poumons, aux reins, aux articulations.

Ces expériences, rapprochées des observations cliniques, montrent que la tuberculose pure des articulations a une marche beaucoup plus lente que la tuberculose compliquée ; elle ne s'accompagne pas d'une fièvre aussi aiguë, ni d'un affaiblissement ni d'une destruction des tissus articulaires aussi rapide que les formes mixtes. C'est dans celles-ci que les symptômes sont les plus prononcés et les plus aigus.

C'est après la formation des fistules par suite du progrès de la tuberculose que les articulations peuvent être envahies par des microbes étrangers. Ils se cultivent peu à peu dans le trajet fistuleux, pénètrent dans l'articulation et évoluent à côté des ba-

cilles tuberculeux. La présence de ces microbes ajoutés modifie le cours et les symptômes de la tuberculose articulaire pure. L'apparition de suppuration chaude dans l'articulation, la formation d'abcès périarticulaires, la destruction des tissus sont les signes de cette invasion secondaire. Les bords des fistules deviennent bleuâtres, ulcérés, anfractueux, œdématiés ; le pus qui s'écoule contient des flocons. En même temps qu'apparaissent des phénomènes généraux graves, fièvre avec exacerbations, diarrhée, affaiblissement etc., des déformations surviennent dans l'articulation, le membre est dévié latéralement et prend une direction vicieuse.

Un signe très important de cette tuberculose mixte, c'est l'existence du pus chaud, bien différent du pus tuberculeux qui a l'aspect d'un sérum clair entraînant des débris caséeux. Ce pus tuberculeux, peu riche en globules purulents, est bien distinct du pus ordinaire appelé « pus de bonne nature », contenant des globules en abondance et aussi des microbes pyogènes.

Le fait que dans les synovites tuberculeuses on trouve des bacilles tuberculeux associés à d'autres microbes, est un fait connu. Mais il était utile de définir ces microbes étrangers, de montrer qu'il y en a de pathogènes, que ceux-ci modifient profondément le processus fondamental, et compliquent non-seulement les symptômes locaux, mais atteignent la résistance de l'organisme tout entier, et donnent à ces tuberculoses mixtes une gravité exceptionnelle

Le but de ce travail est d'affirmer l'existence de la tuberculose articulaire mixte et de la distinguer de la tuberculose articulaire pure.

SUR LE DOSAGE DE LA SUCRASE

(2e MÉMOIRE),

PAR M. A. FERNBACH.

J'ai montré dans le dernier numéro de ces *Annales* les variations considérables que subit l'activité d'un liquide renfermant de la sucrase, pour des variations très faibles dans la réaction de ce liquide, au voisinage de la neutralité : il suffit, en ajoutant peu à peu de la soude très diluée, de dépasser de très peu la neutralité aux papiers réactifs, pour que le pouvoir inversif du liquide devienne nul. Le résultat pratique de ces faits, au point de vue du dosage de la sucrase, est que tout dosage reposant sur l'action de la sucrase en milieu neutre est illusoire, puisque la neutralité exacte ne peut être réalisée, la sucrase elle-même étant un réactif de la neutralité plus sensible que tous ceux que l'on connaît jusqu'ici.

Après avoir constaté l'augmentation rapide de l'activité de la sucrase dans un milieu d'une acidité très faible mais croissante, il y avait lieu de se demander ce que devient cette activité lorsque l'acidité va en croissant indéfiniment. C'est là une étude qui a été abordée par M. Kjeldahl [1]; il en a indiqué très sommairement les résultats, comme je l'ai fait moi-même, pour les besoins de l'exposé, dans mon premier mémoire; mais ces résultats sont loin d'être aussi simples, tout au moins à interpréter, qu'ils pourraient paraître au premier abord, et méritent de nous arrêter quelque temps.

D'une manière générale, la quantité de sucre interverti par la sucrase, en présence de doses croissantes d'un même acide, va en croissant à mesure que la dose d'acide croît. Mais le phénomène d'interversion, qui était d'abord uniquement dû à la sucrase, influencée par l'acide, ne tarde pas, à partir d'une certaine dose d'acide, variable pour chaque acide, à se compliquer ;

1. *Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet*, 1881.

il devient le résultat de la superposition de l'effet de l'acide seul et de la diastase, influencée par l'acide. La quantité de sucre interverti par l'acide seul va en croissant avec la dose d'acide; celle qui est intervertie par la diastase, influencée par l'acide, croît d'abord, puis va en décroissant, de telle sorte que nous devons trouver pour chaque acide une dose d'effet maximum.

Remarquons de suite que l'influence des différentes doses d'un même acide ne peut être exprimée par aucun chiffre, puisqu'il nous est impossible de savoir la quantité de sucre que la diastase intervertirait en l'absence de l'acide; mais nous pouvons, par la marche générale du phénomène, saisir le maximum de l'effet. Il nous suffit pour cela d'étudier l'effet des différentes doses d'un même acide, *en même temps et avec le même liquide diastasifère*.

Afin de discerner, dans ce phénomène complexe, tel que je viens de le présenter, la part qui revient à chacun des deux effets, il faut nous faire une idée de la quantité de sucre que l'acide agissant seul peut intervertir. L'étude complète de l'interversion du sucre par les acides étendus, à une température inférieure à 100°, quelque intérêt qu'elle puisse présenter, est trop en dehors du cadre de ce travail pour que j'aie songé à l'aborder actuellement; je ne veux en signaler ici que quelques points qui m'ont paru particulièrement importants, parce qu'ils jouent un rôle considérable dans toute l'étude de l'interversion du sucre par la sucrase en présence des acides, et qu'ils m'ont permis de trouver l'explication d'un certain nombre de faits dont le mécanisme me paraissait d'abord impénétrable. Je me bornerai à indiquer les principaux résultats, en les appuyant de quelques faits expérimentaux.

I. — *Interversion du sucre par les acides étendus à la température de* 56°.

Le phénomène de l'interversion du sucre, à une température relativement basse, par les acides étendus, dépend, comme celui de l'interversion par la sucrase, d'un certain nombre de conditions, moins délicates, il est vrai, dont on a bien une notion générale, mais sur lesquelles on n'a pas, à ma connaissance, fait d'expériences précises. Il dépend, entre autres, de la concentration de l'acide, de la température à laquelle il agit, de la

durée de l'action, de la *concentration de la solution sucrée*. C'est cette dernière condition qui, pour nous, est la plus importante à considérer; examinons-la tout d'abord.

J'ai choisi trois acides, d'énergies variées, à des concentrations telles que l'interversion ne fût pas trop rapide, l'acide acétique, l'acide oxalique et l'acide sulfurique. Je les ai fait agir à la température de 56°, pendant 1 heure, sur des solutions sucrées renfermant des poids croissants de saccharose. Voici les résultats que j'ai obtenus :

Acide acétique.

Concentration [1] de l'acide.	Quantité de saccharose présent à l'origine, en grammes.	Quantité de saccharose interverti au bout d'une heure, en centigrammes.
10	1	4
	2	8,2
	3	12,8
20	1	6,6
	2	13,2
	3	18,8

Acide oxalique.

0,1	2	3,2
	3	4,9
	4	6,7
0,2	1	3,2
	2	7,6
	3	12.8
	4	17,4
0,5	1	8,9
	2	18,5
	3	29,1
	4	44,4
1	1	16,7
	2	35
	3	55,3
	4	77,3

Acide sulfurique.

0,2	1	7,6
	2	16,8
	3	25,7
	4	34,8

On voit que pour les trois premières séries d'essais, c'est-à-dire lorsque l'acide agit lentement, la quantité de sucre inter-

1. Tous les chiffres représentant ici et plus loin la concentration des acides expriment des millièmes, c'est-à-dire le nombre de grammes renfermé dans un litre.

verti est presque exactement proportionnelle à la quantité de saccharose présent à l'origine, ou à la concentration de la solution sucrée. Pour les autres essais, la quantité de sucre interverti croît plus rapidement que la quantité de saccharose.

Nous aurons à revenir sur ces faits tout à l'heure. Nous pouvons dès à présent y trouver l'explication d'un autre fait que j'ai observé dans l'étude de l'interversion du sucre par les acides étendus, à température basse. Lorsque l'interversion marche très lentement, la quantité de sucre interverti est sensiblement proportionnelle au temps, au moins pendant les premières heures, mais cette proportionnalité ne tarde pas à cesser et le phénomène à se ralentir. La quantité de saccharose va en effet constamment en diminuant, et par suite, la quantité de saccharose qui peut être interverti dans des intervalles de temps égaux va en diminuant également.

La connaissance des faits que je viens d'exposer nous permet maintenant de passer à l'étude de l'influence des acides sur la sucrase. Elle suffit pour préciser les conditions dans lesquelles nos expériences devront être faites.

II. — *Interversion du sucre par la sucrase en présence de doses croissantes de divers acides.*

Je me suis placé dans les conditions expérimentales que j'ai décrites antérieurement. La quantité de saccharose présente dans chacun de mes tubes était toujours 2 gr. 5 (5cc d'une solution à 50 0/0). Dans le bain-marie réglé à 56°, à côté de chaque tube renfermant la sucrase et l'acide, j'en plaçais un autre destiné à mesurer la quantité de sucre interverti par l'acide seul; il renfermait la même dose d'acide que le premier et la même quantité de liquide diastasifère préalablement débarrassé de sa matière active par ébullition. J'ai constaté, en effet, que si l'on fait agir l'acide seul sur le sucre, en présence d'eau distillée, la quantité de sucre interverti n'est pas exactement la même qu'en employant la méthode que je viens d'indiquer; on trouve toujours un ou deux centigrammes de sucre interverti en plus, comme si les matériaux, en si faible quantité cependant, que le liquide diastasifère renferme, avaient une influence légèrement retardatrice sur l'activité de l'acide. Je me suis tou-

jours attaché à opérer avec un liquide diastasifère aussi neutre qu'on peut l'obtenir par le procédé que j'ai indiqué, et à n'étudier que les doses d'acide telles que l'acidité apportée par le liquide à sucrase fût négligeable.

Les nombres qui suivent expriment en centigrammes la quantité de saccharose interverti au bout d'une heure, déduction faite de celle que l'acide intervertit dans les conditions définies plus haut. Je ne donne en général que les résultats d'une seule série d'essais, choisie parmi toutes celles que j'ai faites comme me paraissant la plus probante.

Acide sulfurique.

Doses d'acide.	Quantité de sacc[illegible] interverti en centigr.
0,025	29
0,05	29
0,1	29,1
0,2	26,5
0,5	13
1	0

La difficulté de doser exactement, à cause de la faible acidité du liquide diastasifère, une quantité d'acide inférieure à 0,025, m'a obligé à ne pas pousser l'essai plus loin. On voit que le maximum est inférieur à cette dose. L'acide ne commence à intervertir du sucre pour sa part qu'à partir de la dose 0,05.

Acide oxalique.

0,025	41,6	»
0,05	45,7	17,8
0,066	»	19,5
0,1	47	18,1
0,125	»	17,7
0,2	45,5	17,2
0,5	36,2	»
1	21,1	11,1
2	3,7	2
4	0	0

L'acide oxalique présente un maximum net correspondant à la dose 0.066 ou $\frac{1}{15,000}$. Cette dose d'acide n'intervertit pas de sucre pour sa part. Nous verrons tout à l'heure l'influence de cette circonstance sur la netteté du maximum.

Acide tartrique.

Doses d'acide.	Sucre interverti en centigrammes.	
0,05.	38,5	»
0,1	57	»
0,2	63,2	»
0,25.	»	60
0,5	»	66,6
1	64,8	67
2	»	64
4	»	56
5	52,4	»

Acide succinique.

Doses d'acide.	Sucre interverti en centigrammes.
0,05.	32,2
0,1	33,7
0,2	36
1	36,7
2	37,2
4	36,6
8	35,2

Acide lactique.

0,1	36
0,2	36,1
0,5	36,8
1	36,8
2	36,8
5	37,8
10	33,7
20	32

Acide acétique.

0,1	61,7
0,2	65,8
1	72
2	73,5
5	73,3
10	73,2
20	73,3
50	50

On voit qu'avec l'acide oxalique la marche du phénomène apparaît nettement, surtout dans la première série de chiffres que je donne, la seconde n'ayant pour but que de préciser plus exactement la situation du maximum. L'acide, qui active d'abord l'action de la sucrase jusqu'au maximum, la retarde ensuite de plus en plus, jusqu'au moment où cette action devient nulle et où l'acide agit seul.

Il n'en est pas de même pour les autres acides, pour lesquels le maximum, ou du moins le maximum apparent, correspond à une dose capable d'intervertir pour sa part une quantité de sucre très appréciable. Voici en effet les quantités de sucre interverti, dans les conditions où je me suis placé, par ces doses de maximum apparent :

	Doses d'acide	Sucre interverti en centigrammes.
Acide tartrique.	1	8,5
» succinique.	2	4,3
» lactique	5	12,2
» acétique.	10	6,3

Avec ce dernier acide, la dose d'effet maximum est encore

moins nette qu'avec les autres, et si je lui assigne le chiffre 10 ou $\frac{1}{100}$, c'est parce qu'il est assez sensiblement la moyenne entre les chiffres 1 et 20 qui, comme l'expérience nous le montre, comprennent entre eux le maximum.

Pour trouver l'explication de la différence que présentent les derniers acides avec l'acide oxalique, il nous suffit de nous reporter à l'étude par laquelle nous avons commencé, de l'interversion par les acides seuls. Comme je l'ai dit plus haut, j'ai toujours fait, pour chaque dose d'acide, deux expériences simultanées dont l'une était destinée à mesurer la quantité de sucre interverti par l'acide seul. Or il est certain que le chiffre trouvé ne donne qu'une idée approchée et exagérée de ce que l'acide peut faire dans le tube voisin. Dans ce tube en effet, il y a de la sucrase, dont l'effet, exagéré par la présence de l'acide, tend à diminuer de plus en plus la quantité de saccharose présent. Par conséquent l'interversion par l'acide seul doit devenir de moins en moins active.

Cette différence, que le raisonnement appuyé sur les faits nous montre devoir exister entre nos deux tubes, ne peut, il est vrai, être considérable ; elle ne dépasse certainement pas 3 ou 4 centigrammes; mais elle suffit pour effacer le maximum, sans que nous ayons le moyen de le faire apparaître plus nettement. Si en effet l'emploi d'un liquide très actif exagère cette différence, l'emploi d'un liquide moins riche en sucrase nous donne des nombres qui, au voisinage du maximum, diffèrent trop peu les uns des autres pour qu'on ne doive pas les considérer comme identiques.

Nous ne pouvons donc, avec ces acides, que connaître les limites qui comprennent le maximum, sans savoir exactement à quelle dose ce maximum correspond, et nous devons simplement le considérer, dans une approximation suffisante, et lorsqu'une indication plus nette fait défaut, comme situé à égale distance de ces deux limites extrêmes. C'est ainsi que nous avons assigné, pour l'acide acétique, à la dose de maximum d'effet le chiffre $\frac{1}{100}$.

Nous voyons de plus un fait que j'ai énoncé antérieurement et qui nous montre que l'approximation dont je viens de parler est suffisante : au voisinage du maximum, des variations no-

tables dans la dose d'acide ne se traduisent que par des variations insignifiantes dans la quantité de sucre interverti.

III. — *Activité spécifique des divers acides.*

Si nous considérons les acides dans l'ordre dans lequel je les ai étudiés, nous voyons que le maximum d'effet correspond à des doses de plus en plus considérables. Nous pourrons donc dire que l'activité qu'un acide communique à la sucrase ou son activité spécifique est d'autant plus grande que le maximum d'effet est produit par une dose plus faible. On voit qu'en classant les acides d'après cette définition, comme je l'ai fait plus haut, ils ne se trouvent pas placés dans le même ordre que si on les rangeait d'après l'activité avec laquelle ils intervertissent le sucre.

Indépendamment de cette situation du maximum, variable avec les différents acides, il y avait lieu de se demander si l'effet produit par la dose maximum de chacun des acides sur une même quantité de sucrase serait différent, et si, à l'activité spécifique telle que je viens de la définir, ne s'en ajouterait pas une autre se manifestant par une action plus ou moins énergique suivant la nature de l'acide. Il fallait rechercher si, en faisant agir sur une même dose de sucrase, en présence de la même quantité de sucre, les doses des différents acides qui correspondent au maximum d'effet, on trouverait des chiffres différents ou identiques.

Voici les résultats de l'expérience :

	Doses d'acide.	Sucre interverti par l'acide et la diastase.	Sucre interverti par l'acide seul.	Différences des 2 chiffres précédents.
Acide sulfurique.	0,05	31,3	0,7	30,5
» oxalique.	0,066	30	0	30
» tartrique	1	40	8,6	31,4
» succinique.	2	34,2	3,7	30,5
» lactique.	5	41,5	12,2	29,3
» acétique.	10	37,9	7,2	30,7

On voit que les chiffres de la dernière colonne sont assez peu différents pour qu'on puisse les considérer comme identiques et

n'envisager leurs différences que comme étant dues à des erreurs de dosage. Nous devons donc conclure que les différents acides ne manifestent pas d'autre activité spécifique que celle que nous avons définie plus haut.

IV. — *Comment une même dose d'acide acétique se comporte-t-elle en présence de doses variables de sucrase?*

Si je me suis étendu aussi longuement sur cette étude de l'influence des acides sur la sucrase, c'est que, en dehors de l'intérêt qu'elle peut avoir en elle-même, il pourrait en sortir un résultat pratique au point de vue du dosage de la sucrase.

Revenons à l'interversion en présence de $\frac{1}{100}$ d'acide acétique. Comme je l'ai montré antérieurement, les différences de neutralité des liquides diastasifères disparaissent absolument devant cette dose. Aux raisons qui m'ont déterminé à faire choix de l'acide acétique, et que j'ai exposées dans mon premier mémoire, vient s'ajouter la suivante, qui est bien plus importante : en additionnant le liquide à sucrase d'acide acétique, on est sûr, à cause du peu d'énergie de cet acide, de n'en déplacer aucun autre qui pourrait se trouver dans le liquide à l'état de sel, et d'opérer en présence d'un acide unique.

L'emploi de l'acide acétique étant justifié par ces raisons, demandons-nous s'il ne pourrait pas nous servir à doser la sucrase avec précision. Quelles conditions cet acide, qui fait disparaître les causes d'erreur étudiées jusqu'ici, doit-il encore réaliser pour nous conduire à un semblable résultat? Il faudrait évidemment que son influence sur des quantités variables de sucrase fût proportionnelle à ces quantités. En d'autres termes, en intervertissant du sucre en présence de $\frac{1}{100}$ de cet acide, toutes choses égales d'ailleurs, avec des quantités de liquide diastasifère représentées par les nombres 1, 2, 3, 4, et retranchant des quantités totales de sucre interverti celles qu'intervertit l'acide seul, trouve-t-on des nombres proportionnels à 1, 2, 3, 4? L'expérience d'abord, le raisonnement ensuite, nous répondent qu'il n'en est pas ainsi. Voyons d'abord l'expérience.

J'ai pris 1, 2, 3, 4^{cc} d'un liquide diastasifère aussi exactement neutre que possible, et j'ai trouvé les résultats suivants :

Quantité de sucrase employée.	Sucre interverti par le liquide neutre.	Sucre interverti en présence d'acide acétique.
1	14,3	22
2	28,4	39,2
3	40,7	54
4	52,6	67

Le liquide neutre ne donne de chiffres proportionnels aux quantités que pour les deux premiers essais ; pour les deux autres, les chiffres sont inférieurs à ce qu'ils devraient être dans le cas de la proportionnalité. Cela tient à deux causes : la première, que j'ai exposée antérieurement, résulte de ce que le liquide n'est pas absolument neutre, mais probablement légèrement alcalin ; la seconde résulte de l'influence de la quantité de sucre interverti, qui est supérieure, à partir de l'essai 3, au $\frac{1}{10}$ de la quantité totale de saccharose présent (2^{gr} dans chaque tube), influence qui a été mise en lumière par M. Duclaux. Mais même pour les essais 1 et 2, pour lesquels la proportionnalité existe, les quantités de sucre interverti en présence de l'acide ne sont pas entre elles comme les nombres 1 et 2. Il semble que l'acide agisse plus énergiquement sur les quantités de diastase les plus faibles que sur les quantités plus fortes.

Voici une autre expérience dans laquelle, l'interversion du sucre étant moins active et le liquide diastasifère plus neutre, la proportionnalité presque absolue existe pour le liquide neutre, mais qui présente les mêmes faits pour le liquide agissant en présence d'acide acétique.

Quantité de sucrase employée.	Sucre interverti par le liquide neutre.	Sucre interverti en présence d'acide acétique.	Chiffres proportionnels calculés.
2	3,8	5,4	5,4
3	5,7	7,4	8,1
4	7,7	9,5	10,8
5	9,6	11,5	13,5

Ces chiffres, étant moins élevés, présentent avec les nombres qui répondraient à la proportionnalité, et que j'ai inscrits dans la dernière colonne, une différence moins grande que ceux de la première expérience.

Si nous nous reportons à ce que nous avons appris sur l'interversion par l'acide seul, nous trouvons de ce fait de l'exagéra-

tion apparente de l'influence de l'acide sur la quantité de diastase la plus faible une explication simple, et nous voyons que les choses ne peuvent pas se passer autrement. En effet, si nous considérons deux tubes renfermant des quantités de diastase représentées par 1 et 2, le saccharose disparaît plus vite dans le second tube que dans le premier, parce qu'il y a plus de diastase, et par suite l'acide intervertit moins de sucre dans ce tube, de sorte que dans le résultat final de l'expérience, la part que nous faisons à l'effet de l'acide dans le second tube est exagérée, et la part qui doit être faite à la diastase est diminuée d'autant.

Nous ne pouvons donc pas appliquer immédiatement l'emploi de l'acide acétique au dosage de la sucrase. La variation de la quantité de sucrase, qui est précisément le fait intéressant à constater dans l'étude de la sécrétion de cette diastase par un être inférieur, introduit dans le phénomène de l'interversion en présence d'acide acétique, une complexité qui nous oblige à chercher une méthode détournée permettant d'arriver à un dosage exact. Je dois cependant faire remarquer que l'interversion en présence de l'acide acétique peut nous permettre d'étudier la marche de la sécrétion de la sucrase, et, si elle ne nous donne pas de renseignements très précis sur sa quantité absolue, elle peut cependant nous indiquer si cette quantité va en croissant ou en décroissant.

Si les faits que j'ai exposés jusqu'ici ne nous permettent pas encore d'atteindre la solution du problème du dosage de la sucrase, ils ont du moins l'avantage de nous faire saisir les influences multiples que subit la transformation du sucre par cette diastase. J'espère pouvoir prochainement faire un pas de plus vers la solution de la question, en exposant une méthode un peu plus compliquée que celle à laquelle je pensais arriver en commençant ce travail. On ne saurait s'attendre à un procédé de dosage simple pour une substance dont l'action est soumise à tant de causes de perturbation, si l'on songe que cette action même peut seule servir de moyen de mesure.

VIBRIO METCHNIKOVI;

VACCINATION CHIMIQUE

Par M. N. GAMALÉIA

I

Si l'on sème le *vibrio Metchnikovi* [1] dans un bouillon nutritif, préparé avec des pieds de veau [2], il s'y développe très abondamment à la température de 35-38°. A la surface du liquide se forment dès le surlendemain des membranes épaisses, constituées par des zooglées de vibrions. En agitant le liquide, on fait tomber ces membranes au fond de la fiole, ce qui permet la formation de nouveaux voiles à la surface. Ces phénomènes continuent pendant quatorze jours, au bout desquels la culture paraît être arrêtée. Même à travers le bouchon, on sent une odeur caractéristique, exhalée par ces cultures. Cette odeur devient beaucoup plus intense quand on procède à la stérilisation du liquide, à 120° pendant une demi-heure.

Ce liquide stérilisé, *fraîchement préparé*, a une action toxique pour certains animaux comme les cobayes, pigeons, poules, chiens et moutons. Les *cobayes* sont à poids égal les plus sensibles à l'action de ce poison. Quatre centimètres cubes de ce liquide, injectés en une fois à des cobayes de 250 à 400 grammes, les tuent [3]. Leur mort, qui survient dans 12 ou 20 heures, est précédée par un abaissement progressif de la température du

1. Voir les « *Annales* » 1888, nos 9 et 10.

2. Les pieds de veau hachés sont chauffés avec trois fois leur poids d'eau, à l'autoclave à 115° pendant 2 heures. Puis on passe par le linge, on ajoute encore le même volume d'eau, 1 0/0 de peptones, 1/2 0/0 de sel, on neutralise par la potasse, on chauffe une demi-heure dans la marmite de Papin à 120°, et on filt sur du papier.

3. Les inoculations ont été toujours faites dans les muscles.

corps. A l'autopsie on trouve un œdème gélatineux hémorrhagique à l'endroit de l'inoculation; l'intestin est hypérémié et plus ou moins rempli d'un liquide sanguinolent contenant l'épithélium desquammé.

Les doses plus faibles que 1^{cc} pour 100 grammes de poids vivant n'amènent que quelques désordres passagers de l'économie. Ces désordres sont différents pour les doses moyennes et petites. Tandis que les premières (plus d'un 1/2^{cc} pour 100) provoquent un abaissement de la température allant jusqu'à 2°,5, au-dessous de la normale, les doses très petites conduisent à une hyperthermie de 1° — 1°.5. Ces changements de la température disparaissent au bout de quelques heures, après quoi on ne distingue plus aucun trouble chez les animaux inoculés[1].

Une fois la température redevenue normale, le lendemain ou le surlendemain après la première inoculation, on peut impunément la répéter. *Les effets toxiques ne s'accumulent pas.* Grâce à ce fait, on peut dépasser de plusieurs fois la dose mortelle d'emblée, en faisant les inoculations par des petites doses fractionnées.

D'un autre côté, on ne trouve chez les cobayes aucune accoutumance à l'effet du liquide toxique. Par de nombreuses expériences comparatives entre les cobayes déjà intoxiqués et les cobayes neufs, j'ai constaté que leur réceptivité reste toujours la même. Elle ne change ni par rapport aux doses mortelles qui continuent à tuer les cobayes antérieurement intoxiqués comme les cobayes neufs, ni par rapport aux doses moyennes et très petites (jusqu'à 1/10 de c. c.) qui provoquent la même réaction fébrile chez ces deux genres d'animaux. Je n'ai pu constater non plus aucune différence dans la durée et le moment de l'apparition de cette réaction.

Les *pigeons* succombent facilement aussi par l'injection intramusculaire du liquide toxique. Seulement, ils sont plus résistants, et leur mort n'arrive qu'avec 12^{cc} de liquide pour 200^{gr} de poids vivant. C'est-à-dire qu'à poids égal ils sont trois fois plus résistants que les cobayes. La mort est précédée de l'hypothermie comme chez les cobayes, et les phénomènes trouvés à l'au-

1. Pourtant les cobayes pleines avortent ordinairement après l'inoculation. Les animaux tuberculeux sont extraordinairement sensibles à l'action toxique de notre liquide.

topsie sont les mêmes. Les doses espacées ne provoquent qu'une hypothermie passagère, n'ont pas d'effets cumulatifs, et on ne constate pas non plus d'accoutumance au liquide toxique.

Cette accoutumance apparaît pourtant chez les autres espèces animales : les poulets, les chiens et les moutons.

Les *poulets* accusent la réaction contre l'inoculation toxique par une élévation notable de la température, qui peut atteindre 44°. La répétition des mêmes doses conduit à des réactions de plus en plus faibles.

Les *chiens* paraissent être tout aussi sensibles que les cobayes pour des quantités égales par kilo. L'intoxication se traduit chez eux, outre l'élévation de la température, par la diarrhée et les vomissements. Mais l'immunité toxique s'acquiert très vite, et la répétition des mêmes doses et de doses doubles n'a plus le même effet.

Les *moutons* intoxiqués n'ont pas la fièvre, mais de la diarrhée et des vomissements. Ils sont moins sensibles que les chiens, et tout aussi faciles à habituer à la toxine.

Les *lapins* sont extrêmement peu sensibles au liquide toxique. Ils supportent impunément et sans troubles l'injection de 20 et 40 c. c de liquide.

Toutes ces inoculations ont été faites dans le tissu musculaire. L'inoculation sous-cutanée est moins dangereuse pour la vie, c'est-à-dire peut être faite avec des doses plus fortes sans produire la mort. Mais elle détermine des œdèmes considérables.

L'inoculation intrapéritonéale, au contraire, amène plus facilement la mort.

Cet exposé rapide nous permet d'arriver aux conclusions suivantes :

Les effets toxiques, produits par la culture stérilisée des vibrions de Metchnikoff, ne s'accumulent pas, et en additionnant des doses inoffensives, on peut dépasser de beaucoup la dose mortelle sans produire un accident fâcheux quelconque.

Les divers animaux varient non seulement dans leur réceptivité vis-à-vis de la toxine, mais aussi dans leur faculté à s'habituer à ce poison : nulle chez les uns, cette faculté est très apparente chez les autres.

II

Quoique les cobayes, plusieurs fois intoxiqués par notre liquide, n'acquièrent aucune immunité vis-à-vis du virus mort, ils deviennent, au contraire, complètement réfractaires par rapport à l'infection par le virus vivant. Cette immunité, qui reste relative après les premières inoculations par le vaccin, devient complète dès que la somme de liquide inoculé à diverses reprises a dépassé la dose mortelle de 4cc par 100 gram. Par conséquent, l'action vaccinale s'accumule, tandis que l'action toxique ne le fait pas.

Ainsi, par exemple :

Expériences. — 29 août 1888. Quatre cobayes sont inoculés à 10 h. du matin sous la peau, par du sang d'un pigeon de passage contenant beaucoup de vibrions.

Le nº 1 avait reçu 4cc. de vaccin.
Le nº 2 — 3cc. —
Le nº 3 — 1/8cc. —
Le nº 4 est un cobaye neuf.

Leurs températures sont :

	A 2 h.	A 4h 1/2.	
Nº 1.	40°	39,2°	reste bien portant.
Nº 2.	41,4	41,4°	meurt le 25 août au matin.
Nº 3.	40,5	37°	meurt pendant la nuit.
Nº 4.	39,2	34°	id.

A l'autopsie on trouve un œdème sous-cutané hémorragique chez les nos 3 et 4. Beaucoup de vibrions dans le sang du cœur du nº 4. Peu chez les nos 3 et 2. Ce dernier a un œdème clair. Son intestin hypérémié contient des vibrions et des leucocytes polynucléaires, tandis que l'exsudation intestinale des nos 3 et 4 contient l'épithélium desquamé, comme c'est la règle dans cette maladie.

11 août 1888. — 3 cobayes ayant reçu 8, 6 et 4cc. de vaccin stérile sont inoculés sous la peau, en même temps qu'un cobaye témoin, avec 1/4 de centimètre cube de sang de pigeon de passage. Le témoin meurt dans la nuit, les cobayes vaccinés restent bien portants.

16 août 1888. — On fait avaler à 5 cobayes vaccinés (de 8 à 4cc de vaccin.) et à 2 cobayes témoins, à chacun 5 à 6cc d'une culture fraîche de *vibrio*

Metchnikovi dans du bouillon. Un des vaccinés commence immédiatement à tousser et meurt moins d'une demi-heure après, avec un liquide écumeux sortant par le nez. Dans son médiastin on trouve du sang. Les deux témoins meurent le lendemain avec des vibrions dans le sang; les 4 autres vaccinés sont bien portants.

30 août. — 2 cobayes vaccinés et contrôlés, 4 cobayes vaccinés par 4 à 7^{cc} de vaccin et 1 cobaye neuf sont inoculés par 1/8 de centimètre cube de sang de pigeon de passage, dans le péritoine. Le témoin meurt le lendemain; les cobayes vaccinés restent bien portants.

16 septembre. — 5 cobayes vaccinés (de 4 à 8 ^{cc}) et 2 témoins sont inoculés par 1/4 de centimètre cube de sang de pigeon de passage dans le poumon droit, à travers la plèvre. Un des vaccinés meurt de suite par lésions de l'artère pulmonaire. Les 4 autres restent bien portants, tandis que les deux témoins meurent pendant la nuit. A l'autopsie, exsudation pleurétique, avec de nombreux vibrions.

On voit que l'immunité conférée aux cobayes par le vaccin chimique est extrêmement régulière et constante. Nous pouvons ajouter qu'elle paraît très durable, puisque nous l'avons retrouvée après plusieurs mois.

Ainsi, les animaux qui ne s'habituent pas à la toxine chimique, acquièrent au contraire facilement une immunité vis-à-vis de l'infection.

III

Les pigeons sont aussi vaccinés par les vaccins chimiques. Seulement, et c'est un point très important, la quantité nécessaire à leur vaccination est trois fois plus grande que celle qui est suffisante pour les cobayes; elle correspond, chez les pigeons aussi, à la dose mortelle qui est de 12^{cc} pour 200^{gr} de poids vivant. Par exception, il arrive quelquefois qu'on réussit à vacciner par une quantité plus petite (6 ou 8^{cc}.)

Outre que l'immunité s'acquiert plus difficilement chez le pigeon que chez le cobaye, elle est aussi moins stable. Par conséquent, en inoculant à plusieurs jours d'intervalle les mêmes pigeons par le virus vivant, on peut en perdre chaque fois quelques-uns. Il est pourtant probable qu'en augmentant la quantité du vaccin inoculé, on arriverait à une constance plus grande de l'immunité.

17 août. — On injecte 1/8 de centimètre cube de sang de pigeon de passage dans les muscles de :

4 pigeons vaccinés par	16 cc	de culture stérile.
3	—	14 cc	id.
2	—	12 cc,	et d'un témoin.

Le témoin meurt pendant la nuit, tandis que tous les pigeons vaccinés restent vivants.

J'attache la plus haute importance à ce fait, qu'un animal plus réfractaire, comme l'est le pigeon vis-à-vis du cobaye, exige pour la production de l'immunité une quantité non pas plus petite, mais au contraire plus grande du vaccin chimique.

Les poulets peuvent être aussi vaccinés par le vaccin chimique.

21 septembre. — 3 poulets sont inoculés par la trachée au moyen d'un liquide virulent, pris dans l'exsudation pleurétique d'un lapin, tué par le vibrion de Metchnikoff.

Le nº 1 vacciné par	29 cc	reçoit	1 cc	de virus.
Le nº 2 —	33 cc	—	1/4 cc	—
Le nº 3 témoin			1/4 cc	—

Le nº 2 reste bien portant, les nos 1 et 3 succombent. Les vibrions ne se trouvent que dans les poumons du vacciné; ils ont envahi le sang du témoin.

Nous avons réussi également à vacciner les poulets contre l'injection du virus par le gosier, ce qui tue les poulets neufs.

IV

Pour contrôler l'acquisition de l'immunité chez les poulets et les autres animaux, plus résistants vis-à-vis de l'infection par le *vibrio Metchnikovi* que les cobayes et les pigeons, nous avons eu recours à un virus exalté.

Les lapins, comme nous l'avons dit, sont très résistants à notre vibrion. Pourtant, ils succombent à l'inoculation par la

1. Voir les « *Annales* » 1888, N. 9

plèvre de 2 à 4^{cc} de sang de pigeon dans le poumon. Si l'on inocule de la même manière l'exsudation pleurétique de ces lapins morts à d'autres lapins, on voit qu'ils sont tués par des doses plus petites, 1^{cc}, $1/2^{cc}$. Ainsi par plusieurs passages on arrive à tuer les lapins par une demi-goutte (1/16 de centimètre cube) de l'exsudation pleurétique mêlée avec de l'eau stérile. L'exaltation du virus se manifeste par la rapidité de la mort, qui survient en 3-5 heures, ainsi que par les lésions trouvées à l'autopsie. L'intestin devient de plus en plus diarrhéique, rempli par un liquide contenant des épithéliums desquammés et des vibrions. Le sang du cœur contient aussi ces derniers en nombre énorme. Pourtant, il ne s'agit pas ici d'une exaltation durable de virulence : les cultures, faites avec le sang des lapins tués par le vibrion, ont la virulence ordinaire. Il faut croire, que dans ces cas de passages à travers les lapins, il se fabrique une toxine excessivement active qui produit l'invasion typique des vibrions [1].

En tout cas, cette exsudation pleurétique est tout ce que nous connaissons de plus virulent et infectieux, et c'est elle qui m'a servi pour le contrôle des animaux vaccinés. De cette manière, j'ai pu voir que l'immunité peut être conférée aussi aux chiens et aux moutons.

Quant au lapin, le plus résistant de tous les animaux de nos expériences à l'intoxication chimique, nous n'avons pas jusqu'ici réussi à lui conférer une immunité complète vis-à-vis du virus vivant. Même après avoir reçu jusqu'à 180^{cc} du vaccin, les lapins n'acquièrent qu'une immunité relative, qui se traduit par un retard de leur mort sur celle de témoins, et par l'absence des vibrions dans le sang du cœur. Une fois, même, nous n'avons pas du tout trouvé de vibrions dans le corps d'un lapin mort d'une injection virulente faite après vaccination ; ce qui prouverait une immunité contre le virus vivant, mais non pas contre la toxine.

Cette difficulté que rencontre la vaccination des lapins confirme la conclusion tirée de la comparaison de l'acquisition de l'immunité par les cobayes et les pigeons ; elle prouve, notamment, que la vaccination chimique des animaux contre l'infection est d'autant plus facile qu'il sont plus sensibles à l'action toxique du vaccin.

1. J'espère pouvoir revenir sur cette question.

Ajoutons, pour être complet, que la vaccination des cobayes peut aussi être faite d'un seul coup par l'inoculation sous-cutanée, qui est moins toxique et qui permet, par conséquent, d'introduire à la fois une quantité plus grande de vaccin.

V

Les chiffres que nous avons donnés sur la toxicité et le pouvoir vaccinant des cultures de vibrions se rapportent, comme nous l'avons dit, à des liquides fraîchement préparés. Si, au contraire, on les laisse se reposer pendant quelques jours, (deux semaines en général), on constate toujours des changements importants survenus dans leur pouvoir toxique et vaccinant. Déjà, l'odorat révèle la diminution de la quantité d'ammoniaque contenue dans le liquide. En rapport avec ce fait, l'œdème produit par des doses mortelles n'est plus sanguinolent, mais blanchâtre. Beaucoup plus importante est la modification dans l'activité du liquide, qui est toujours doublée dans ces conditions. Les cobayes succombent à l'inoculation non pas de 4, mais de 2^{cc}. Les pigeons sont tués par 4-6^{cc}. Cette exaltation de la toxicité des cultures stérilisées est si prononcée qu'elle nous a fait perdre plusieurs animaux d'expérience vaccinés par des doses de 2^{cc}, réputées inoffensives. Elle est aussi parfaitement constante, puisqu'elle apparaît *toujours* dans nos vaccins laissés en repos.

Le pouvoir vaccinal croît parallèlement à la toxicité, et 2^{cc} des cultures anciennes sont suffisants pour conférer l'immunité aux cobayes, comme le sont 4^{cc} des cultures fraîches.

Quant à l'interprétation de ce fait important et imprévu, nous croyons qu'elle doit être la suivante.

Dans nos vaccins qui ne sont pas filtrés, la *substance toxique et vaccinale* est contenue dans les membranes épaissses des zooglées des vibrions. Elle ne se dissout que lentement dans le liquide environnant, et c'est cette portion dissoute qui donne l'action toxique et vaccinale. Après que les bactéries ont été tuées par la chaleur, cette diffusion de cette substance, pour le moment inconnue, continue, contribuant à accroître l'activité du liquide.

La manière de voir que nous venons d'exposer rendrait aussi

compte du phénomène suivant. Si l'on neutralise exactement, avec un acide, le vaccin frais qui est toujours très alcalin, au bout de quelques heures le liquide redevient alcalin et l'on est obligé de répéter plusieurs fois la neutralisation. Cette réaction pourrait bien résulter de la dissolution successive de nouvelles quantités d'une substance alcaline.

Du reste, il est facile de prouver ce que nous avançons, en étudiant séparément l'activité du liquide et des membranes, formées par les vibrions. Cette comparaison montre toujours une activité beaucoup plus grande dans les membranes.

Ainsi, voici les résultats d'une série d'expériences, faites avec une culture peu toxique, faite au-dessous de 35°.

	Doses non mortelles.	Doses mortelles.
Culture filtrée sur porcelaine. . .	16cc	20cc en 2 jours.
		24cc en 24 heures.
Culture filtrée sur le coton	12cc	16cc
Culture épaisse non filtrée	6cc	10cc

Ajoutons, aussi, que M. Roger pour la vaccination charbonneuse, et M. Charrin pour la bacille du pus bleu, ont cru voir une activité plus grande chez les cadavres des microbes.

Ce fait de la virulence plus grande des liquides anciens, avec l'interprétation que nous lui avons donnée, conduit à des conséquences intéressantes.

Il nous montre que les substances actives sont retenues dans les zooglées microbiennes; qu'elles n'en sortent que par une diffusion lente; qu'elles n'agissent pourtant sur l'économie animale que si elles y sont introduites déjà dissoutes. Par conséquent, une toxine très énergique peut ne pas être décelée dans les cultures d'une bactérie pathogène, uniquement parce que cette toxine ne serait pas dissoute dans les liquides de culture.

Comment expliquer cette inactivité de la substance non dissoute? C'est parce que les microbes morts et leurs zooglées introduits dans l'économie animale sont promptement incorporés dans les leucocytes, les « balayeurs » du corps, où ils sont, comme de raison, assimilés et détruits. Emprisonnées à l'intérieur de cellules, les substances non dissoutes ne peuvent dégager leur action toxique ou vaccinale sur tout l'organisme.

Ainsi, il faut croire que la fonction épuratrice des leucocytes peut présenter un obstacle sérieux à l'acquisition de l'immunité.

Ici, peut se trouver une des causes de ce fait, que les maladies infectieuses dans lesquelles les microbes sont contenus dans les cellules, comme la blennorrhagie, la tuberculose, la fièvre intermittente, ne vaccinent pas par leur première invasion.

VI

Les milieux gélatinisables (pieds de veau, tête de veau) conviennent très bien pour les expériences que nous venons d'exposer. Mais il était intéressant de rechercher comment se ferait la production du vaccin dans d'autres milieux de cultures.

L'addition de 5 °/₀ de glycérine ne modifie pas la teneur des cultures en substance active.

Dans les bouillons ordinaires, les cultures s'arrêtent très vite et ne donnent qu'une faible récolte de vaccin. Nous avons réussi à rehausser le pouvoir nutritif des bouillons en y introduisant une substance hydrocarbonée, comme la gomme arabique. Alors, la culture devient très abondante, les membranes qui se déposent au fond du vase sont tout aussi épaisses qu'avec le bouillon de pieds de veau, et le développement continue tout aussi longtemps. Mais l'activité de la culture ne correspond pas du tout à son abondance. La toxicité du liquide stérilisé est de 12^{cc} et la toxicité des membranes est de 8^{cc} pour le cobaye.

Ainsi, on voit que la fabrication de la substance toxique et vaccinale est subordonnée à l'alimentation des vibrions, et que le régime non azoté lui est défavorable. L'addition de la gélose ne nous a pas donné de bonnes cultures.

Par contre, le bouillon fait avec la gélatine (à 15-20 °/₀), où la multiplication n'était pas du tout si abondante que dans les cultures avec pieds de veau ou la gomme arabique, est très remarquable pour la grande production de la substance active. Ainsi une culture, semée depuis 20 jours et stérilisée, tuait les cobayes à la dose de 2^{cc} lorsqu'elle était injectée dans les muscles.

Des faits précédents on peut conclure que c'est la substance azotée qui sert à la fabrication de la substance active. On pourrait croire que les matières albuminoïdes donneraient des résul-

tats encore meilleurs. Aussi avons-nous fait des cultures dans le hachis de viande. Celle-ci est très bien digérée par notre vibrion, surtout si on l'humecte auparavant avec de la glycérine, qui favorise probablement la pénétration de la diastase. Les cultures achevées ont une odeur caractéristique rappelant celle de l'extrait Liebig. Cette odeur est très forte et persistante. L'activité du liquide stérilisé est de 4^{cc}, injectés dans les muscles, et de 3^{cc}, introduits dans le péritoine des cobayes. La culture dans les œufs en nature est très active, mais elle présente certains inconvénients. Dans les œufs, mélangés dans une fiole avec du bouillon stérile, nous n'avons pas obtenu de bonnes cultures.

Ainsi, pour résumer, l'activité des vaccins dépend de la composition des milieux de culture, et résulterait de la transformation des substances gélatineuses.

Ces variations dans la production du vaccin, tout à fait conformes à nos autres connaissances sur la microbiologie chimique, sont très importantes au point de vue pratique de la fabrication des vaccins. Ajoutons, que l'influence de la température sur la richesse des cultures en vaccin est aussi très manifeste.

VII

Quelle est la substance qui a le pouvoir toxique et vaccinal dans nos cultures? L'importance de cette question est si grande que, faute de l'avoir résolue, nous ajournions toujours la publication de ce travail, fait à Odessa depuis plus d'un an. Malheureusement, nos occupations actuelles ne nous permettent pas d'en prévoir la solution prochaine. D'un autre côté, comme les cultures de vibrion de Metchnikoff, données dans d'autres mains, peuvent conduire à la répétition de nos recherches, nous avons cru opportun de faire connaître nos travaux.

Pourtant, nous avons fait quelques essais pour caractériser la fonction active de nos vaccins.

Et d'abord, on peut être sûr que le vaccin n'agit pas par une substance « empêchante. » Si l'on additionne d'une substance nutritive quelconque, les cultures stérilisées dans le bouillon de pieds de veau, le vibrion s'y développe de nouveau [1].

1. Naturellement nous ne nions pas l'existence de la « substance empêchante » dans les cultures d'autres microbes, par exemple, celui de la tuberculose.

La distillation dans le vide a démontré que la substance vaccinale est *volatile*, puisque avec le liquide distillé nous avons réussi à vacciner un cobaye et un pigeon.

Nos tentatives de retenir cette substance par un acide (acide tartrique ou acide chlorhydrique), n'ont pas abouti : elle est détruite par l'ébullition dans un milieu acide. Par contre, dans un milieu alcalin, notre substance supporte très bien des températures élevées. car il nous est arrivé de chauffer à plusieurs reprises nos vaccins à 120° pendant 30 minutes et même 1 heure, sans qu'ils perdent leur activité.

Quant à la question de savoir si la toxine et le vaccin sont une seule et même substance, ou bien deux substances différentes, nous serions tenté d'admettre la première solution. Dans toutes nos expériences, le pouvoir toxique et la force vaccinale ont toujours marché de pair. Du reste, comme les notions de vaccination et d'immunité sont complexes, cette question n'a pas l'importance qu'elle paraît avoir au premier abord. Ainsi, par exemple, nous avons vu que les vieux vaccins ne produisent plus, faute d'ammoniaque, l'œdème sanguinolent local. Pourtant, cet œdème est une des lésions qui caractérisent l'infection. Ceci est pour la toxicité ; quant à la vaccination, nous en parlons plus loin. Ajoutons encore que nos cultures toxiques donnent une magnifique coloration violette avec l'acide chlorhydrique.

VIII

Nous croyons que de l'étude précédente se dégagent quelques idées nouvelles concernant la nature de l'immunité.

On a vu que la susceptibilité d'un animal donné à l'action toxique du vaccin marche parallèlement à la facilité avec laquelle il se vaccine contre le virus vivant. En d'autres termes, la vaccinabilité est proportionnelle à la sensibilité toxique. Il est vrai que nos recherches ont établi une relation encore plus précise entre ces deux qualités, puisqu'elles ont montré que la dose totale nécessaire à la vaccination est celle qui tue, quand elle est donnée d'emblée. Mais cette relation précise, établie pour un seul mode d'inoculation, l'inoculation intramusculaire, pourrait ne pas avoir une portée générale, tandis que la proportionnalité entre la sensibilité et la facilité d'être vacciné nous paraît se

vérifier dans d'autres maladies. Pour le choléra asiatique, par exemple, elle est tout à fait sûre. Comment expliquer ce fait? Cette question est difficile à discuter avant un examen plus intime de la nature de l'immunité. Et nos recherches prouvent que, même étudiée dans sa plus simple expression, c'est-à-dire comme résistance à un virus dissous, la vaccinabilité présente des variations très grandes chez les divers animaux. Ainsi, en ce qui concerne le *vibrio Metchnikovi*, chez les uns (les cobayes), les centres nerveux ne s'habituent pas du tout à l'action toxique, et la traduisent toujours de la même manière par la fièvre, ou l'hypothermie et la mort; tandis que les autres cellules, probablement endothéliales et leucocytaires, changent complètement leur mode de réaction, comme on peut en juger par la résistance à l'inoculation du virus vivant [1]. Chez d'autres animaux (moutons), au contraire, les cellules nerveuses s'habituent très vite, et en répétant les inoculations on ne remarque plus leurs troubles, tandis que l'immunité vis-à-vis du virus vivant est très difficile à atteindre. Chez les autres (chiens), les deux immunités semblent marcher ensemble et se réalisent facilement. D'autres enfin (lapins), ne changent leur réaction ni dans les centres nerveux, ni vis-à-vis du virus vivant. Par conséquent, l'immunité peut être envisagée à des points de vue différents : comme résistance à la dose mortelle, comme absence de troubles nerveux (vomissements et diarrhée); comme absence de perturbations thermiques (fièvre ou abaissement de la température); comme absence des lésions locales (œdèmes ou abcès): comme résistance à l'infection vivante [2]. Et on a vu que toutes ces immunités sont loin de marcher de pair, qu'au contraire, elles peuvent facilement se dissocier chez les différents animaux et, ajoutons-le, par rapport aux virus différents.

L'application de ces données aux faits connus de la pathologie des maladies infectieuses contribue à jeter sur elles un jour nouveau. On comprend, par exemple, comment la pneumonie récidive chez l'homme, et ne récidive pas chez le lapin qui est beaucoup plus susceptible à l'infection. Mais, faisons un pas de plus et nous arriverons à une conclusion qui peut avoir une

1. Voir, page 545, notre première expérience sur l'infection des cobayes vaccinés.

2. On comprend alors, que de même qu'il existe diverses « immunités » dans la même maladie, on peut aussi trouver plusieurs substances « vaccinales ».

importance pratique très considérable. Supposons un animal qui aurait besoin pour l'acquisition de l'immunité microbique (c'est-à-dire contre l'infection par un agent vivant) d'une dose très grande de la toxine de ce microbe, et dont le système nerveux serait en même temps très sensible à cette toxine donnée : il est clair que, de par la maladie, l'immunité ne serait jamais acquise. Pourtant, au moyen des vaccins chimiques divisibles à volonté, on pourrait le rendre tout de même réfractaire. De cette manière, nous sommes en mesure de *créer une immunité* qui n'existait pas dans la nature [1].

J'ajouterai encore un mot sur la vaccination contre le vibrion de Metchnikoff. L'intérêt que nous avons porté à son étude, était considérablement augmenté pour nous par les analogies profondes qu'elle présente avec la vaccination anticholérique. *Mutatis mutandis*, plusieurs des chapitres précédents pourraient s'appliquer au choléra. Cette ressemblance est d'autant plus remarquable que les substances chimiques vaccinales sont certainement différentes, puisque la vaccination réciproque, que nous avons cru observer pour les pigeons, n'existe pas pour les autres animaux. Les cobayes, par exemple, ne se vaccinent par aucune de ces maladies contre l'autre.

1. On pourrait objecter aux raisonnements précédents que c'est à tort que le mot d'*immunité*, qui doit être réservé pour la résistance à l'infection, y est appliqué à l'insensibilité toxique qu'on pourrait nommer *habitude*, comme pour les poisons minéraux. Nous croyons, pourtant, que cette distinction n'aurait aucune valeur ni théorique, ni pratique, parce que, premièrement en théorie, nous ne savons pas encore si l'immunité à l'infection n'est pas entièrement décomposable en une accoutumance de certaines cellules à l'action toxique des microbes (Voir notre article sur la vaccination charbonneuse dans les « Annales » 1888 n° 10), et parce que, deuxièmement, l' « habitude » à l'intoxication pourrait bien être un phénomène complexe, impliquant l'action de divers appareils physiologiques. Quant à la pratique, nous n'avons pas besoin d'insister sur ce que certaines maladies peuvent mettre au premier plan dans l'ordre d'importance l'une ou l'autre des immunités que nous avons décrites. Ainsi, par exemple, pour la diphtérie, c'est contre l'intoxication nerveuse qu'il s'agirait de pouvoir vacciner et d'obtenir l'immunité. Enfin, les vaccins figurés n'agissant que d'après les mêmes principes que les vaccins chimiques (Voir l'article que nous venons de citer), de ce côté aussi la distinction ne peut non plus être maintenue, Et dans l'action de vaccins chimiques, on voit tout de suite apparaître les différentes « immunités » précitées. Par conséquent, nous insistons pour donner à ce mot d'immunité son sens le plus large

NOTE SUR LA FORMATION DES SPORES DANS LA LEVURE

Par M. E. DUCLAUX.

La publication du mémoire de M. Kayser, qu'on trouvera en tête de ce numéro des *Annales*, me conduit à revenir sur un fait de nature à jouer un rôle dans l'interprétation des résultats de mon récent travail sur la durée de conservation des levures dans des liquides qu'elles ont fait fermenter. Je veux parler de la formation de spores dans des levures ainsi conservées.

Jusqu'ici cette formation de spores n'avait été signalée que chez les globules de levure qu'on soumet, par un moyen quelconque, à de fâcheuses conditions d'existence, par exemple à l'inanition. On n'en trouve aucune trace dans la levure jeune, ou même âgée de quelques mois, conservée dans la bière ou dans un liquide nutritif artificiel qu'elle a fait fermenter. A mesure qu'ellle y vieillit, on voit apparaître, dans un nombre de plus en plus grand de globules, des granules ronds de matière grasse, qu'on est d'autant plus exposé à confondre avec des spores qu'ils se couvrent souvent, à leur surface, d'un fin précipité protoplasmique qui masque un peu l'homogénéité de leur substance et adoucit leurs contours noirs et nettement dessinés. Il ne reste plus alors, comme *criterium*, que l'étude des dimensions. Les spores formées dans un globule sont toujours, ou à peu près, de grosseur égale. Il est rare, au contraire, qu'il en soit de même pour les globules gras. Mais ce caractère

n'est vraiment utile que quand il y a beaucoup de globules à spores. L'esprit reste indécis quand ils sont très rares, et tel est toujours le cas dans les dépôts de levures conservées dans des liquides nutritifs qu'elles ont fait fermenter. Pourtant M. Kayser a raison d'affirmer leur présence. On voit, en effet, très nettement, quelques cellules à spores dans les vieux dépôts de levures, datant de 15 ans et plus, sur lesquels j'ai opéré.

Partant de là, on pourrait croire que la longue vitalité de ces dépôts a son explication dans l'existence de ces spores, en petit nombre, même en si petit nombre qu'elles échappent quelquefois à un examen soigneux, mais capables pourtant de féconder le liquide nouveau dans lequel on les ensemence. Dans cette interprétation, ce serait la spore qui serait vivace, et non le globule.

Le doute où je suis longtemps resté au sujet de l'existence de spores m'avait conduit à examiner la validité de cette interprétation, qu'une observation facile m'a fait abandonner. Quand on ensemence dans un liquide nutritif, contenu dans une petite cuve à recouvrement placée sous le microscope, un petit nombre de cellules de levure provenant d'un vieux dépôt, et qu'on examine à un assez faible grossissement pour avoir dans le champ une cinquantaine de globules, on constate que la proportion de ceux qu'on voit bourgeonner est de beaucoup supérieure à celle de ceux qui montraient des spores, même en comptant comme spores authentiques tout ce qui en a un peu l'aspect. J'avais essayé, quand la méthode de culture sur plaques de gélatine s'est popularisée dans les laboratoires, de comparer le nombre des colonies produites par une goutte de semence avec le nombre de globules portant des spores, vraies ou fausses, que le microscope y décelait. Mais j'ai été arrêté par cette circonstance, bien connue aujourd'hui, que le rajeunissement est beaucoup moins facile sur cette gélatine nutritive que dans les milieux liquides.

Un autre fait, observé par M. Kayser, et que j'ai vérifié, s'accorde avec ceux qui précèdent. Lorsqu'on transporte dans l'eau distillée un peu de cette levure vieillie, on voit le nombre des globules à spores augmenter rapidement, si bien qu'au bout de quelques jours, il n'y a plus de place au doute. Tout cela démontre qu'il y a dans le dépôt, d'autres cellules vivantes que celles qui sont sporifères.

Reste maintenant à expliquer pourquoi cette formation de spores, nulle à l'origine, se manifeste après des mois et des années dans un liquide qui est resté tout le temps assez nutritif pour alimenter la vie des cellules sans spores. Au premier abord il semble qu'on soit très loin, dans ce cas, de ces conditions fâcheuses d'existence que nous avons vu présider à la prompte formation des spores. Mais la contradiction disparaît si on songe que les dépôts sur lesquels j'ai opéré, renfermant beaucoup de levure en présence de peu de liquide, dans lequel s'accumulaient les produits de dénutrition, et en particulier, des doses de plus en plus considérables d'acides gras volatils, devenaient un terrain de plus en plus défavorable. On obtient des spores en faisant vivre des levures au contact du lactose avec une faible quantité de matière nutritive azotée. M. Pasteur m'a même dit en avoir vu dans une levure épuisée, vivant au contact d'une solution de saccharose sur laquelle elle n'avait plus d'action. On ne peut évidemment plus alors parler d'*inanition*, ou plutôt ce n'est plus l'inanition par privation d'aliment, mais par l'impossibilité pour le malade de consommer ceux qu'on lui offre, et qui lui conviennent pourtant très bien quand il est en santé.

REVUES ET ANALYSES

LES MICROBES DES EAUX.

REVUE CRITIQUE.

Burdon-Sanderson. *Thirteenth Report*, etc., 1872. — Pasteur et Joubert. *Comptes Rendus.* 1878. — Miquel. *Annuaires de l'observatoire de Montsouris,* 1879 et suiv. — Fol et Dunant, *Archives des sc. phys. et naturelles de Genève,* 1884 et 1885. — Di Vestea et Tursini. Recherches sur les eaux de Naples 1885. — Maggi. Eaux potables considérées comme boisson de l'homme et des animaux. *Milan* 1884. — E. Meyer. Bacteriological water-tests 1886. — Cramer. L'alimentation d'eau de Zurich, 1885. — Meade Bolton. Sur la façon dont se comportent diverses espèces de bactéries dans l'eau potable. *Zeitschrift f. Hygiene.* 1886. et ces *Annales*. t. I, p. 200. — Hueppe. *Journal f. Gasbeleuchtung und Wasserversorgung*, 1887 et 1888. — E. Fazio, microbes des eaux minérales. *Clinica Cantani*, Naples, 1888. — Leone. Sur les microbes des eaux potables, et leur vie dans l'acide carbonique. *Journal d'hygiène,* 1887. — Hochstetter. Sur les eaux artificielles de Seltz. *Arbeiten aus d. k. Gesundheitsamte,* 1887. — Wolfhügel. *Mittheilungen a. d. K. Gesundh.* — C. Fraenkel. Recherches sur la désinfection des puits, et la richesse en germes des eaux profondes. *Zeitschr. f. Hygiene,* 1889.

La question des microbes du sol, que nous avons étudiée dans le tome Ier de ces Annales, se relie sur une foule de points à celle des microbes contenus dans les eaux, que de récents travaux nous permettent de traiter aujourd'hui avec quelques développements. Comme elle est très vaste, nous bornerons notre champ d'études aux parties qu'on connaît le mieux, et encore aurons-nous besoin, comme on le verra, de beaucoup de méthode et de prudence.

Les eaux qui coulent à la surface du sol proviennent, on le sait, uni-

quement des eaux météoriques. Une partie de ces eaux coule sans pénétrer dans la terre, ou ressort après avoir pénétré à une faible profondeur. Toutes ces eaux, que nous appellerons du nom commun *d'eaux de surface*, sont naturellement très riches en germes, et il n'y a rien de général à dire sur elles, sinon que leur richesse est variable et dépend de conditions dont quelques-unes au moins sont ou assez claires ou assez bien connues pour qu'il soit inutile d'insister. Une autre portion des eaux météoriques s'enfonce au contraire dans les profondeurs du sol, d'où elle ressort après un trajet et surtout un temps de séjour plus ou moins long, soit directement sous forme de sources, soit indirectement dans les pompes ou les puits.

Cette seconde portion des eaux météoriques, que nous appellerons *eaux de profondeur*, peut se dépouiller, dans son trajet souterrain, des microbes dont elle s'était chargée à son passage dans l'air ou dans les couches superficielles du sol. Il est important d'examiner tout de suite les causes qui peuvent la stériliser.

La première, la plus anciennement connue, et sans doute la plus puissante, est l'action capillaire du sol. La filtration dans les espaces capillaires retient en effet les matériaux en suspension dans l'eau et avec eux les germes de microbes. C'est un fait bien démontré, sur lequel je n'insisterai que pour essayer de préciser un peu ce qu'on appelle filtration capillaire.

Ce mot réveille l'idée des phénomènes ordinaires de capillarité, c'est-à-dire de notions qui, pour beaucoup d'esprits, sont encore nuageuses. Il importe de dire tout de suite que le caractère capillaire des méats dans lesquels circule l'eau pluviale n'a d'autre effet que d'augmenter l'effet des surfaces sur le volume d'eau qui les lèche, c'est-à-dire de multiplier les chances que peut avoir une particule solide en suspension dans l'eau de rencontrer un élément de paroi sur lequel elle se fixe, attirée par une force analogue à celle qui fixe la matière tinctoriale sur le tissu plongé dans un bain de teinture. L'effet serait le même si les chances de contact se trouvaient augmentées par une autre cause quelconque. On réussit par exemple à épuiser un bain de teinture en y agitant constamment des écheveaux de fil dont le poids est très faible par rapport au poids du liquide, avec lesquels il n'y a pas de phénomènes capillaires proprement dits, mais qui, à force de se promener dans le bain, finissent par entrer en contact avec chacun de ses éléments et le dépouiller de sa matière colorante. Il pourrait arriver, et il arrive quelquefois, de même, qu'un long repos fasse adhérer aux parois d'un vase les éléments figurés en suspension dans le liquide qui le remplit. Il peut arriver, et il arrive sans doute souvent, qu'une lente filtration au travers d'une grande longueur d'espaces non capillaires et même assez larges, produise le même résultat que la filtration

au travers d'espaces capillaires plus courts et plus étroits. C'est au moins ce qui arrive, comme je l'ai démontré, pour les sels en solution. Seulement il faut que le canal au travers duquel se fait la filtration soit d'autant plus long qu'il est plus large. Dans les espaces étroits, la surface en jeu est très grande et la vitesse faible, et c'est ce qui explique leur action puissante.

Une eau qui a traversé une grande épaisseur de terrain, qui y a séjourné (et on sait qu'il y en a qui y séjournent plus de six mois, avant d'en ressortir sous forme de sources) aura donc de grandes chances d'y être arrivée pure. C'est en effet ce qu'ont démontré nettement MM. Roux et Chamberland, et ce qui a été confirmé depuis par divers expérimentateurs. Mais tel ne sera pas toujours le cas, et il pourra très bien se faire, comme l'a constaté M. Wolfhügel, que quelques sources renferment des quantités plus ou moins grandes de microbes. Il n'y a pas contradiction entre ces faits en apparence opposés. Alors même que M. Wolfhügel aurait pris le soin, dont on ne voit pourtant guère de traces dans son mémoire, de ne s'adresser qu'à des sources profondes ne recevant aucune part d'eaux superficielles (et le meilleur caractère pour en décider est de rechercher si ces sources ne subissent pas de crue après les pluies, et conservent une température constante), il peut se faire que les diverses sources qu'il a étudiées reçoivent des eaux de terrains fissurés, au travers desquels la purification ne se fait pas. Tel sera, par exemple, fréquemment le cas dans les terrains calcaires, dans lesquels les eaux météoriques se creusent, par dissolution des parois au moyen de l'acide carbonique qu'elles contiennent, des canaux qu'elles élargissent de plus en plus, si bien qu'il finit par couler de véritables rivières sous terre. Cette possibilité de la souillure d'eaux, pourtant profondes, par des germes puisés à la surface du sol, forme le principal intérêt du mémoire que M. Thoinot a publié dans ces *Annales*, p. 145 de ce volume.

Au point où nous en sommes arrivés, nous pouvons découvrir une face du problème qui est restée, il semble, inaperçue de tous ceux qui l'ont étudié, et à laquelle je faisais allusion plus haut en parlant d'une cause de stérilisation autre que la filtration capillaire. Cette filtration peut bien nous expliquer comment les eaux *arrivent* stériles dans les profondeurs du sol : elle ne nous explique pas pourquoi elles y *restent* stériles, et peuvent en ressortir au bout de quelques mois complètement privées de germes. J'ai fait observer, en 1882, que les cloisons poreuses ne sont imperméables que pour les germes qui cherchent à les traverser, notamment par effraction, mais non pour ceux qui y cheminent lentement par voie de croissance et d'allongement, de sorte qu'avec ce que nous savons jusqu'ici, nous ne voyons aucune cause qui empêche les myriades d'espèces qu'on trouve à la surface du sol, de pénétrer peu

à peu, par voie d'envahissement graduel, les couches les plus profondes, et d'apporter la vie dans des régions où nous savons pourtant que règne la stérilité. Il faut donc qu'il y ait autre chose.

Éliminons d'abord par l'expérience une objection qu'on pourrait faire à ce raisonnement théorique. La stérilité des eaux profondes, pourrait-on dire, n'est pas nécessairement une preuve de la stérilité des terres profondes, et il se pourrait bien que celles-ci fussent peuplées sans pouvoir permettre aux microbes, grâce aux phénomènes d'attraction capillaire que vous invoquez, d'envahir les eaux qui les baignent. A celà nous avons à opposer les anciennes expériences bien connues à MM. Pasteur et Joubert sur la craie de Meudon, et les expériences plus nouvelles, et plus curieuses à divers points de vue, de M. Fraenkel dont nous avons parlé page 496 du tome I[er] de ces *Annales*. Les réserves que nous avons faites à leur sujet laissent debout ce fait surprenant de la stérilité sinon absolue, du moins relative d'une couche située à trois mètres de profondeur dans le sous-sol de l'Institut de Berlin, construit dans la vieille ville et à quelques centaines de mètres du fleuve, c'est-à-dire sur un point où la souillure du sol semblerait devoir être complète.

A quoi donc attribuer cette stérilité persistante des couches profondes? On a d'abord invoqué l'action de la température, et M. Fraenkel a démontré que celle qu'on rencontre en été à deux ou trois mètres de profondeur est un obstacle absolu à la croissance des bacilles du typhus et du choléra. Mais il y a des organismes moins sensibles, il y en a même beaucoup, et Fischer nous en a montré un qui se cultive à 0°. Rien ne nous dit d'ailleurs que les microbes les plus sensibles n'aient pas une sensibilité artificielle, dépendante des conditions d'hérédité, et ne puissent arriver à se plier peu à peu à ce séjour à basse température. En somme, cette influence de la chaleur ne suffit pas à expliquer qu'aucun microbe n'arrive à pénétrer dans les profondeurs du sol.

Nous ne réussirons pas mieux en invoquant l'absence de nourriture. Depuis longtemps on sait que les microbes peuvent se multiplier dans les eaux en apparence les plus pauvres, d'abord parce que dans toutes il y a un peu de matière organique, puis parce que les microbes ont une telle puissance de développement que l'absence de nourriture les gêne peu, comme M. Pasteur l'a montré le premier pour la levure; ils vivent sur leurs propres tissus et prolifèrent encore, avec plus de lenteur, il vrai, que lorsqu'ils sont bien fournis de matière alimentaire.

Une cause plus puissante est, il semble, l'absence d'oxygène qui se fait est de plus en plus rare à mesure qu'on s'enfonce dans les profondeurs du sol. A ce point de vue la terre peut être assimilée à une masse de vin recouverte d'une couche continue de mycoderma vini, qui

ne laisse se répandre dans les profondeurs que de l'acide carbonique. Or ce gaz, produit vital du plus grand nombre sinon de la totalité des microbes, ne saurait impunément être mis à leur contact, et c'est en effet ce que démontrent diverses expériences, entre autres celles de Leone faites à Munich, dans le laboratoire de Pettenkofer. En cherchant, par la méthode des cultures sur plaques, ce que devenaient avec le temps les microbes contenus dans les eaux de Munich abandonnées à elles-mêmes, et dans ces mêmes eaux chargées industriellement d'acide carbonique, Léone a trouvé les nombres suivants : L'eau de Munich qui renfermait à l'origine 115 microbes par centimètre cube, en contenait 10,500 au bout de 48 heures et 500,000 après 5 jours. Au bout de ce même intervalle de 5 jours, la richesse en germes de la même eau transformée en eau gazeuse était tombée de 186 microbes à 87. Elle était descendue à 25 au bout de 15 jours. Ce n'est pas la pression de l'acide carbonique dans les siphons qui amène ce résultat, car on le retrouve avec de l'eau dans laquelle on a fait simplement barboter un courant d'acide carbonique ; et ce gaz a une action spécifique, car quand on le remplace par un courant d'hydrogène, au lieu d'une diminution dans le nombre des germes, on a une multiplication rapide. Meade-Bolton est arrivé à peu près simultanément aux mêmes conclusions.

Il est vrai que les expériences de M. Hochstetter, faites à Berlin, sont contradictoires des conclusions qui précèdent. Ce savant n'a pu constater aucune diminution dans le nombre des germes contenus dans de l'eau distillée soumise à un courant d'acide carbonique. Mais voilà plusieurs fois que dans ces *Annales* nous refusons tout caractère contradictoire à des faits qui n'ont pas été observés dans les mêmes conditions. Hochstetter est bien de cet avis, et admet qu'il peut y avoir des bactéries qui résistent mieux que d'autres à l'action de l'acide carbonique. Pour éprouver la justesse de cette manière de voir, il sème des cultures pures de bactéries dans de l'eau de Seltz artificielle, et constate que le plus grand nombre des espèces y meurt au bout de périodes variables, qui oscillent entre quelques heures et un mois et plus. Les bactéries du typhus sont restées vivantes 5 jours, celles du choléra seulement 3 heures, tandis qu'elles supportaient 392 jours de séjour dans l'eau naturelle.

Notons en passant que tous ces résultats sont en contradiction apparente avec ce que j'ai vu dans mes études sur les meilleures conditions de conservation des microbes, car ma conclusion est que c'est à l'abri de l'oxygène et en présence de l'acide carbonique que leur vitalité est la mieux assurée. Mais encore une fois, il n'y a pas contradiction entre les faits. J'opérais sur des microbes réduits à l'état de spores et plongés dans un liquide encore nutritif, au lieu d'opérer

sur des microbes en libre développement dans l'eau. De plus mes conclusions ne sont pas générales, car j'ai précisément signalé, à propos des levures, qu'elles se conservent beaucoup mieux en présence de l'oxygène qu'au contact de l'acide carbonique.

Si nous revenons maintenant à l'explication du maintien de la stérilité dans les couches profondes du sol, nous voyons que sans pouvoir affirmer que nous la tenons tout entière, nous en avons au moins quelques éléments. Toutes les causes que nous avons signalées agissent peut-être ensemble, et il n'est pas du tout prudent, en général, de conclure de l'unité d'effet à l'unité de cause.

Toutes les conclusions qui précèdent ne s'appliquent qu'aux êtres aérobies, parce que c'est sur eux qu'a uniquement porté l'expérience. Il y aurait un autre travail à faire à propos des anaérobies, travail plus difficile, plus délicat, et qui n'est encore qu'ébauché. Nous le laisserons de côté et nous résumerons toutes les notions que nous venons d'acquérir dans cette phrase simple : les eaux profondes *doivent* le plus souvent être privées de germes d'êtres aérobies.

Voyons maintenant ce qu'elles deviennent. Elles coulent, comme on sait, dans les profondeurs, d'un mouvement lent et uniforme, suivant les lignes de plus grande pente des couches imperméables qui les retiennent, et finissent par ressortir partiellement soit sous forme de sources vives, soit dans des puits d'où on les retire par divers moyens.

Dans tous ces cas, l'eau vient au contact de l'air, parfois de la lumière, et les conditions qui maintenaient la stérilité disparaissent. Voyons comment se fait leur réinvasion.

Les eaux de source sont en apparence au moins les mieux protégées. Quand elles jaillissent par un griffon bien souterrain, pratiqué dans une roche imperméable aux racines des plantes, et qu'elles sont bien protégées contre le mélange avec des eaux de surface, elles apporteront à la surface du sol une pureté absolue qu'elles perdront à courte distance par suite des apports incessants de l'air, du sol, et des animaux qui viennent les habiter. Sous ce point de vue les eaux de la Vanne fournissent un exemple très remarquable. On a suivi dans les profondeurs du sol, à l'aide de travaux aussi hardis qu'économiques, quelques-unes des sources qui alimentaient cette rivière, afin d'en augmenter le volume, et on peut en effet aborder leurs griffons par des souterrains étroits, dans lesquels il n'y a place sur le sol que pour une étroite banquette où circule le visiteur, et qui est bordée par la rigole où coule la source. En prenant l'eau au griffon de la plupart de ces sources, on la trouve absolument pure, mais à quelque distance, même dans ces souterrains profonds, elle est déjà contaminée soit par le voisinage de la banquette dans laquelle on circule pourtant rarement, soit par les insectes qu'aucune fermeture n'empêche d'aller chercher

suivant la saison, la chaleur ou la fraîcheur dans ces souterrains à température constante.

Ces causes de peuplement sont incessantes, et par conséquent le peuplement incessant aussi. Cette considération nous empêche d'entrer pour le moment dans l'examen d'une question qui a été très étudiée et très controversée jusqu'ici, la durée de vie dans l'eau de germes qu'on y a une fois introduits. Nous la laissons d'autant plus volontiers de côté que notre conclusion serait qu'elle n'est pas mûre, et que les résultats contradictoires auxquels sont arrivés, à son sujet, divers savants, tiennent sans doute à ce que leurs eaux ou leurs conditions d'expérience ne se ressemblaient pas.

Il résulte de ces conditions de peuplement une autre conséquence que l'expérience vérifie d'une façon plus nette. Parmi les germes très variés qui ont pu lui arriver dans la suite des temps, chaque eau de source, qui n'en peut nourrir qu'un petit nombre, aura pu choisir l'espèce ou les espèces qui lui conviennent le mieux, suivant sa constitution chimique, sa température, son état d'aération, etc. C'est évidemment à des raisons de cette nature qu'il faut attribuer la population, très étroite comme espèces, des eaux sulfureuses, telle qu'elle a été récemment étudiée par M. Winogradsky [1]. Dans un autre travail intéressant sur les microbes des eaux minérales des environs de Naples, M. Fazio a trouvé d'une façon constante, dans une eau ferrugineuse de Castellamare, dite *Acqua rossa*, un bacille, le *B. ochraceus*, qu'il considère comme caractéristique de cette eau et qui prédomine de beaucoup sur les autres espèces mélangées avec lui. Ces espèces sont d'ailleurs en petit nombre. Ce sont le *B. liquefaciens*, qui existe dans beaucoup d'eaux potables, le *Micrococcus candicans* ou *candidus*, et une bactérie colorée qui lui a paru être le *Bacterium chlorinum* de Engelmann, ou *Bacillus virens* de Van Tieghem. De même, dans une eau voisine, l'*Acqua del Mulino*, il a trouvé comme espèces prédominantes, le *B. ochraceus* et le *Micrococcus candicans*. Il y a en outre une troisième espèce banale. Ce *Micrococcus candicans* se retrouve dans deux autres eaux alcalines de la région, mais cette fois mélangé à d'autres espèces. Voilà un exemple des ressemblances et des différences qui peuvent exister dans un même groupe de sources, différences à cause des différences de composition des eaux, ressemblances par suite de leur voisinage.

Ce serait ici le moment de discuter le caractère spécifique des microbes qui habitent ces diverses eaux. La question a été étudiée pour les eaux minérales, dont on a cherché à lier les propriétés curatives à celles des microbes qui les habitent. Mais je ne sais aucune

1. Voir ce volume, page 49.

tentative qui ait abouti. C'est que le problème est difficile à aborder. Il semble qu'il ait deux faces qu'on ne saurait confondre. La première est la suivante. La constitution chimique des eaux minérales à leur sortie du griffon est-elle, en quelque mesure que ce soit, le résultat de l'action des microbes dans les profondeurs du sol, ou plus généralement le résultat d'une action vivante, incessante comme la vie, et capable d'expliquer le maintien pendant de longs siècles des propriétés générales d'une eau minérale? ou bien cette eau emprunte-t-elle uniquement ses propriétés à des réactions chimiques? Voilà la première face de la question. Voici la seconde. Les microbes qui habitent ces eaux à leur sortie du griffon, et qui ne sont pas nécessairement les mêmes que les microbes hypothétiques qui les ont produites, peuvent-ils agir sur le baigneur ou le buveur d'eau de façon à donner à ses fonctions générales ou à sa digestion une allure nouvelle? Il serait bien imprudent de répondre d'avance non, à ces deux questions; il serait encore plus imprudent d'y répondre oui, sur le vu des documents imparfaits que la science possède en ce moment sur ce point.

J'ai du reste hâte d'arriver à l'étude des puits, au sujet desquels vient de paraître un bon travail de M. C. Fraenkel. Je ne suivrai ni dans son ordre général, ni dans tous ses détails, ce travail, fait à un tout autre point de vue que celui de cette revue critique; mais j'y prendrai, au fur et à mesure, ce qui me sera nécessaire pour l'ordre logique de mon exposé. Disons tout de suite que M. Fraenkel signale avec raison, après M. Koch, les différences profondes qui séparent au point de vue hygiénique les puits maçonnés et ouverts à l'air, de ceux qui sont formés uniquement par le tube plongeant de la pompe alimentaire. Dans les premiers, alors même qu'ils sont clos à leur partie supérieure, alors même qu'ils sont voûtés, la maçonnerie, à laquelle on ne peut donner de bases solides, et qui repose nécessairement sur un sol imprégné d'eau, finit par jouer dans toute sa hauteur, et par faire du puits un appareil de drainage pour toute la région du sol avoisinante. Comme c'est près du puits qu'on lave le linge, comme le puits est toujours voisin des bâtiments d'habitation ou d'exploitation, son fond finit par se couvrir d'une couche de boue chargée de matières organiques. A plus forte raison s'il est découvert, et s'il peut recevoir ainsi des cadavres d'insectes ou d'animaux, ou des feuilles mortes. Tout puits, si hermétiquement clos qu'il soit, est d'ailleurs envahi par la végétation, et le résultat de toute végétation est nécessairement un fumier. Quand on se rappelle les quantités considérables de matière organique que M. Boussingault a signalées dans certains puits de Paris, on n'a pas de peine à comprendre que M. Fraenkel ait trouvé un cloaque au fond des puits de l'Institut d'hygiène de Berlin, et ait échoué dans ses efforts pour les désinfecter.

Tout autres sont les conditions d'un tuyau de pompe aspirante pénétrant dans le sol, venant plonger au fond dans une cuvette de dimensions réduites, mais maintenu et protégé au-dessus par le sol bien tassé autour de lui. La couche aquifère dans laquelle il plonge n'a alors presque rien à redouter des eaux de surface, qui ne l'abordent qu'après une filtration plus ou moins longue, analogue, autour du tuyau, à celle qu'elles subissent à une certaine distance du puits, et il semble au premier abord, que si la couche aquifère est stérile, la pompe devra débiter constamment de l'eau stérile aussi. Comme l'eau réunie dans la cuvette du fond du puits est dans une certaine mesure de l'eau exposée à l'air, il est difficile d'espérer qu'elle sera toujours stérile, mais on peut penser au moins qu'après l'avoir évacuée, et lavé la cuvette par un jeu prolongé de la pompe, on finira par avoir de l'eau privée de germes.

En opérant sur une pompe installée depuis 2 ans et demi dans une cour de l'Institut hygiénique de Berlin, et dans laquelle la surface de l'eau dans la cuvette était à 4^{m},48 au-dessous de la surface du sol, M. Fraenkel a vu la richesse en germes de l'eau extraite tomber de 10.800 germes par centimètre cube, chiffre d'origine, à 54, chiffre correspondant au 500e litre extrait. En poussant au millième litre, le chiffre ne tombait pas beaucoup plus bas, et pourtant, comme le volume de la cuvette n'était que de 5 litres environ, le volume d'eau extraite représentait environ 200 fois le volume d'eau primitivement contenu dans la cuvette.

Il y a plus; en recommençant le lendemain, on trouvait que le chiffre des germes avait beaucoup monté dans la nuit, absolument comme s'il s'était produit une multiplication abondante des germes laissés dans l'eau. Cette multiplication lui paraissant anormale, M. Fraenkel a mieux aimé accuser les dépôts adhérents que les microbes de l'eau avaient pu laisser le long des parois du tube ou du sol de la cuvette, dépôts qui, maintenus par l'affinité capillaire, ne rentrent que lentement en suspension dans l'eau. L'expérience a vérifié cette induction. Après avoir nettoyé soigneusement l'intérieur du tube d'aspiration, on y a versé 12 litres d'un mélange d'acide phénique brut et d'acide sulfurique suivant les formules du Dr Laplace. Au bout de 2 heures on a amorcé la pompe, et laissé le tout jusqu'au lendemain. Au bout de 24 heures, les premières portions d'eau extraites présentaient l'odeur et les réactions de l'acide phénique; les dernières ne donnaient aucune trace de la présence de ce corps, et les premières comme les dernières étaient tout à fait stériles. Cette stérilité a persisté 7 jours, après quoi elle a disparu.

On pourrait arguer qu'elle était due non pas à ce que les germes étaient absents, mais à ce que la présence de l'acide phénique, bien

qu'en quantités inappréciables, les empêchait de se développer. Mais cette même eau stérile nourrissait et laissait se multiplier fort bien les germes qu'on y ensemençait. On peut d'ailleurs, quand après une première stérilisation à l'acide phénique les bactéries ont complètement disparu, les diminuer à nouveau, quand elles reparaissent après quelques jours, par un simple nettoyage mécanique du tube. Concluons donc, avec M. Fraenkel, que le réensemencement de l'eau se fait par la pompe, par la chute d'un grain de poussière au travers des soupapes, ou l'écoulement d'une goutte d'eau contaminée le long du tube, mais que la couche aquifère où s'alimente ce puits est stérile.

Il en a été de même pour un autre puits de l'Institut d'hygiène, placé dans de meilleures conditions hygiéniques que le précédent, moins entouré de causes de contamination, et qui servait plus souvent, le premier étant presque abandonné. Ce fait est d'autant plus remarquable que ces deux puits sont très peu profonds, qu'ils sont creusés dans la vieille ville, dans un sol qui porte des habitations depuis de longues années. Ces résultats sont du reste parfaitement d'accord, comme nous l'avons fait remarquer plus haut, avec ce que les études de M. Fraenkel lui avaient appris sur la stérilité du sol de Berlin à de faibles profondeurs.

A la proposition que nous avons énoncée plus haut au sujet de la stérilité des eaux profondes, nous pouvons donc joindre maintenant celle-ci : il suffit que ces eaux profondes apparaissent au contact de l'air ou au contact de corps qui subissent l'action de l'air, pour que leur stérilité disparaisse. Les voies par lesquelles les germes arrivent sont insaisissables, très souvent imprévues, et presque toujours impossibles à tenir closes. Les eaux de la Vanne sont, par exemple, amenées à Paris par une conduite fermée, métallique ou cimentée sur toute son étendue. Il a fallu y laisser, de distance en distance, des portes pour les réparations. Ces portes sont en fer, jointent bien et sont toujours closes. Elles n'en livrent pas moins passage pendant l'hiver à des insectes ou à des vers qui vont chercher de la chaleur dans le tunnel, et dont les cadavres finissent par tomber dans l'eau. Voilà une source toujours ouverte de germes de microbes et d'aliments pour les germes de microbes.

Mais n'oublions pas non plus qu'au point de vue hygiénique, la qualité des germes a une bien autre influence que leur quantité. Une eau peut être très riche en germes et être relativement saine, une autre eau très pauvre et relativement dangereuse, et puisque nous sommes amenés à parler de cette question, nous devons dire à son sujet toute notre pensée, qui est celle-ci : c'est se leurrer soi-même et leurrer le public que de prendre ou de donner le nombre des germes présents dans une eau pour unique mesure de sa valeur hygiénique.

Il faut de plus, ce premier point admis, pousser bien loin la foi dogmatique pour fixer cette valeur par un chiffre, et dire, par exemple, comme on commence à le faire, qu'une eau est pure quand elle contient moins de 300 germes par centimètre cube. Une eau est pure quand elle est pure, c'est-à-dire quand elle ne contient pas de germes du tout. Si dans les laboratoires nous faisons parfois des numérations, ce n'est pas pour faire des fétiches des chiffres trouvés, c'est pour recueillir des faits et y puiser des idées, suivant la formule de Buffon. Mais nous n'avons jamais songé à considérer comme inoffensifs les germes qui sont au-dessous de 300, comme dangereux ceux qui dépassent ce chiffre. Pour juger de la valeur d'une eau, il faut faire entrer en ligne de compte les conditions du captage, la nature géologique du sol d'où elle sort, la nature des surfaces, les chances de contamination dans le trajet, les conditions d'impureté à la sortie, bref l'ensemble de notions que nous avons essayé de résumer dans cet article. Nous nous défierons davantage d'une eau qui reçoit une minime quantité de matières excrémentitielles que d'une eau qui sera chargée de germes pour avoir lavé une région déserte. Cette question de la *nature* des germes est trop importante pour que nous songions à l'aborder à la fin de cette revue déjà longue, dans laquelle nous n'avons voulu étudier que la question de *quantité*. Mais en attendant qu'on ait trouvé le moyen de caractériser dans une eau les germes nuisibles ou pathogènes qu'elle contient, et trouvé dans cette méthode une mesure de leur degré de nocuité, nous professerons que les seules eaux recommandables sont celles qui ne contiennent pas de germes du tout.

C'est l'affaire des hygiénistes de s'emparer de cette conclusion, et de tâcher de la faire passer dans la pratique. Qu'ils nous recommandent pour cela la filtration, le chauffage, qu'ils préconisent tels ou tels appareils, qu'ils nous donnent, comme vient de le faire très bien M. Hueppe dans un article que nous avons visé dans l'en-tête de cette revue, les meilleurs conseils pour l'aménagement de nos fontaines et de nos puits, ils seront dans leur rôle et le public leur en sera reconnaissant. Mais il faut leur dénier le droit de chercher entre les indications formelles de la science et les nécessités de la pratique une transaction qui rappelle un peu le fameux mariage de la carpe et du lapin, et qui risque, après avoir mécontenté la science, de ne pas satisfaire l'hygiène.

Dx.

R. Uhlig. Recherches sur la nourriture des nourrissons malades au moyen de lait stérilisé (méthode de Soxhlet). *Iahrbuch f. Kinderheilkunde*, t. XXX, p. 83.

On sait la mortalité considérable qui frappe pendant l'été les nourrissons qui ne sont pas nourris au sein, et qui sont soumis à l'usage du biberon ou de l'alimentation artificielle. Pour la combattre, on a proposé un très grand nombre de méthodes diététiques ou de formules thérapeutiques. Une des plus curieuses est celles du professeur Epstein, de Prague, qui commence par un lavage de l'estomac, et continue en ne faisant avaler au nourrisson que du lait stérile, conservé par exemple par la méthode de Soxhlet, dont j'ai donné récemment la description. (V. t. III, p. 30.)

Rien ne démontre à coup sûr, *a priori*, que les microbes présents dans le lait en rendent la digestion difficile pour les nourrissons, et amènent des maladies du canal digestif. Tous ceux de ces microbes que nous connaissons bien ont l'air très inoffensif, ou, du moins, aucun n'est pathogène dans le sens accordé jusqu'ici à ce mot, c'est-à-dire n'amène de maladie sérieuse quand il est inoculé sous la peau, ou introduit dans les voies digestives. Mais n'oublions pas que le canal digestif des nourrissons est particulièrement sensible, qu'il supporte par exemple difficilement la présence de certains acides. On comprend à la rigueur que ce même lait, peuplé de microbes, qu'un adulte consommait impunément, puisse amener dans l'estomac du nourrisson des fermentations qui le rendent indigeste, ou y produisent des diastases que la muqueuse jeune n'est pas préparée à supporter. On comprend aussi que les produits toxiques variés qui accompagnent presque toujours la vie des microbes puissent exercer une action puissante sur un organisme jeune et débile. En tout cas, il était intéressant de rechercher par l'expérience le résultat de ce mode d'alimentation, et c'est ce qui a été fait de divers côtés.

Il y avait pour cela divers moyens. Le plus topique eût été bien certainement de réunir en deux lots des enfants bien portants du même âge, et à essayer sur le premier lot l'effet du biberon ordinaire, sur le second celui du lait stérilisé. En prolongeant l'expérience assez longtemps pour qu'elle donne un résultat, pas assez longtemps pour qu'elle puisse tourner au détriment de l'un des lots, on aurait pu, au moyen de pesées successives, et en tenant soigneusement compte des indispositions si fréquentes au jeune âge, se faire une idée précise de la valeur comparée de ces deux modes de nutrition. Cette méthode a déjà été suivie dans des recherches sur l'alimentation des animaux;

c'est évidemment la meilleure, mais elle présente sans doute des difficultés d'application, car je ne sache pas qu'elle ait été employée nulle part. La plupart des observateurs ont supprimé, pour des raisons d'humanité ou d'économie, le lot comparatif, ont servi indistinctement le lait stérilisé à tous leurs bébés, et ont essayé d'apprécier les résultats de ce mode d'alimentation, soit simplement à l'œil, soit en appréciant par la méthode des moyennes les progrès faits par leurs nourrissons.

Comme ils ont presque tous opéré dans des hôpitaux, l'expérience a en outre présenté la circonstance aggravante d'être faite sur des enfants malades, ce qui ajoute à la difficulté d'interpréter ses résultats. Mais on a toujours pu en tirer néanmoins des conclusions favorables à ce mode de nutrition, comme on va le voir par le récit de celles que M. Uhlig a faites à la Polyclinique de Leipzig, sous la direction de M. le professeur Heubner.

Ici l'expérience a porté, du commencement de mai au commencement d'août 1887, sur 39 enfants (21 garçons et 18 fillettes), dont 12 souffraient de dyspepsie aiguë avec diarrhée dyspeptique, 20 de dyspepsie chronique avec troubles de la nutrition, 7 de choléra infantile. La plupart d'entre eux étaient malades depuis longtemps, et leur poids moyen n'atteignait pas la moitié du poids moyen de leur âge. Le lait qu'on leur a servi dès le commencement des expériences, une fois le lavage de l'estomac fait avec une solution tiède et faible de sel marin ou de résorcine, était, pour les enfants au-dessus de 4 mois, du lait commercial de bonne qualité. Pour les enfants au-dessous de cet âge, on étendait le lait de moitié d'eau, et on y ajoutait 30 grammes de sucre de lait par litre, de façon à lui donner le plus de ressemblance possible avec le lait de femme. Chacun de ces enfants avait en moyenne par jour à sa disposition un demi-litre de lait, réparti dans des flacons stérilisés de 150 grammes, dont il suffisait d'enlever le bouchon, qu'on remplaçait par un caoutchouc pour en faire des biberons.

Voici maintenant les résultats de l'expérience. Sur les 39 enfants, il en est mort 4 de maladies intercurrentes (pneumonie, scarlatine ?), n'ayant, en apparence au moins, aucune relation avec la maladie du canal digestif. Restent 35 enfants, sur lesquels il y a eu 7 morts ; c'est une mortalité de 20 pour cent, très inférieure à la mortalité infantile moyenne, qu'Henoch porte, avec quelque exagération, il semble, au chiffre de 80 pour cent. Mais en prenant le chiffre de Varrentrapp, à Francfort, qui est de 49 pour cent environ, on voit, dit M. Uhlig, que l'avantage du lait stérile est encore manifeste.

La conclusion serait un peu caduque si elle ne reposait que sur cette base ; qui dit mortalité dit en effet quelque chose d'extrêmement contingent, et je suis toujours surpris de la facilité avec laquelle les mémoires médicaux tablent sur cette donnée. Si quelqu'un venait nous

dire : en soufflant en l'air, j'empêche la pluie de tomber, et s'il prétendait le prouver en comparant la moyenne de la pluie pendant la quinzaine où il a réellement soufflé en l'air, à la quinzaine précédente dans la même ville ou dans la ville voisine, ou à la quinzaine de l'année précédente, ou à la moyenne des quinzaines depuis le commencement du siècle, on lui rirait au nez. Je consens à reconnaître les différences de ce raisonnement avec ceux qu'on nous sert quelquefois, si on veut reconnaître les ressemblances.

Heureusement M. Uhlig a d'autres arguments. En évaluant les augmentations de poids de ses nourrissons, et en les comparant aux moyennes des divers âges, il a vu que 41 pour cent avaient une augmentation normale, comme s'ils avaient été bien portants; 15 pour cent avaient une augmentation plus faible, mais encore sensible; 5 pour cent sont restés stationnaires; 23 pour cent n'ont manifesté aucune amélioration apparente, enfin 15 pour cent seulement ont diminué de poids, ce qui est évidemment un très bon résultat pour des enfants très malades au moment où les expériences ont commencé. Un examen plus détaillé des histoires individuelles confirme ce résultat général, et M. Uhlig ajoute, pour terminer, que ce mode de traitement est très économique.

L'emploi de ce lait stérilisé se recommande donc par divers avantages, mais je crois devoir faire remarquer, avant de terminer, que rien ne nous dit encore, d'une façon précise, à quoi tiennent ces avantages. C'est un peu arbitrairement, et en vertu d'une idée préconçue, qu'on les rattache à l'absence de microbes dans le lait consommé. Si cette absence devait durer tout le long du canal intestinal, il n'y aurait rien à dire. Ce que nous savons sur la digestion nous autorise à croire qu'elle s'accomplirait tout autrement à l'abri des microbes et en présence des sucs normaux de l'organisme, qu'elle ne le fait lorsqu'elle est soumise à la fois à ces deux influences. Mais si le lait entre dans la bouche privé de microbes, il en rencontre dans tout son trajet. Le lavage initial auquel on soumet l'estomac des nourrissons n'a certainement pas pour effet d'y tuer tous les germes; l'antisepsie des tissus est autrement difficile que cela. D'ailleurs, les détruirait-on au début que la réinvasion serait des plus faciles. Que se passe-t-il donc? Est-ce une question de quantité de microbes, dont le nombre diminuerait peu à peu par suite de l'arrivée régulière dans l'estomac de lait stérile, ou faiblement peuplé par son passage sur la langue et dans la bouche? Est-ce au contraire une question de qualité, les microbes qui habitent l'estomac ayant un caractère plus inoffensif que ceux qui peuvent, dans le lait, provenir du pis de la vache ou des contacts divers auxquels ce liquide est exposé? On ne le sait, et on voit pourtant que ces questions, faciles à étudier, seraient utiles à résoudre pour qu'on ait le

droit d'attribuer à l'absence de microbes les avantages indéniables du lait stérilisé.

A quoi les attribuer en dehors des questions de microbes? dira-t-on peut-être. Voici. Le lait chauffé ne doit pas se comporter dans les organes digestifs comme le lait naturel. Sa caséine est dans un état physique différent, et ne se coagule pas absolument de même; c'est ce dont l'industrie laitière s'est depuis longtemps aperçue. Rien ne prouve qu'il n'y ait pas des différences analogues en ce qui concerne la digestibilité. Que les grumeaux de caillé soient plus gros ou plus fins, plus cohérents ou plus gélatineux, ils résisteront plus ou moins, et séjourneront plus longtemps dans l'estomac avant de traverser le pylore. Ce qui peut servir d'argument en faveur de cette idée, c'est qu'on a trouvé utile d'étendre d'eau le lait de vache avant de le faire servir à l'alimentation des enfants. Or la dilution amène une plus grande division des grumeaux, et agit dans le même sens que le chauffage. En tout cas, on voit que la question n'est pas résolue à l'avance, et c'est pour cela que j'ai pensé à la poser, dans l'espoir qu'elle tentera quelque observateur en situation de l'étudier et de la résoudre.

Dx.

STATISTIQUE DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE
A LA STATION DE TIFLIS (CAUCASE),

DU 1/15 JUILLET 1888 AU 1/13 AVRIL 1889.

Directeur : M. Chljactin, inspecteur de l'administration médicale au Caucase.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	1	2	»	»	1	»	»	»
Morsures à la tête et à la figure — multiples	»	1		»	1		»	»	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	1	»	»	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	1	»	»	»	»	»
Morsures aux mains — simples	»	5	6	»	2	3	»	2	4
Morsures aux mains — multiples	»	1		»	1		»	2	
Cautérisations efficaces	1	»	»	1	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	1	»	»	2	»	»
Pas de cautérisation	5	»	»	1	»	»	1	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	»	7	»	4	7	»	10	16
Morsures aux membres et au tronc — multiples	»	7		»	3		»	6	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	6	»	»	9	»	»
Pas de cautérisation	7	»	»	1	»	»	6	»	»
Habits déchirés	5	»	»	5	»	»	14	»	»
Morsures à nu	2	»	»	1	»	»	2	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	»	»	»	»	»	»	3	3
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	»	»	»	3	»	»
Habits déchirés	»	»	»	»	»	»	3	»	»
Morsures à nu	»	»	»	»	»	»	3	»	»
Total			15			11			23
		A			B			C	
TOTAL GÉNÉRAL				49					

Les animaux mordeurs ont été : chiens, 45 fois ; loup, 1 fois ; cheval, 1 fois ; chat, 2 fois.

Il n'y a pas eu de cas de mort.

Les inoculations, commencées par les moelles de 16, 15, ou 12 jours, n'ont été poussées que jusqu'à la moelle de 4 jours.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de la rage.

Rascot (Pierre), 52 ans, facteur à Murat (Tarn), mordu le 28 février 1889, à la cuisse droite, au-dessous de la fesse. Le pantalon a été déchiré et on constate deux blessures qui ont donné du sang. Elles ont été cautérisées à l'alcali, 36 heures après avoir été faites.

Le chien mordeur a été reconnu enragé par M. Pastre, vétérinaire. Un cheval mordu par le même chien a présenté des symptômes de rage et a succombé le 11 avril.

Rascot a été traité du 9 au 23 mars (Traitement commencé 9 jours après la morsure). Le 9 et le 10 avril, après un travail excessif, Rascot prit froid. Le lendemain il a éprouvé un grand mal de tête et une grande lassitude. Le 12 avril, il éprouve de la difficulté à avaler les liquides et a de la parésie des bras et des jambes; il meurt le 14 avril avec des phénomènes d'asphyxie. Ces renseignements ont été communiqués par le Dr Rascot, de Murat, qui a vu le malade. L'observation n'a été envoyée à l'Institut Pasteur que le 25 septembre 1889.

Manuel (Jose), 6 ans, de Asteazu-Guipuscoa (Espagne), mordu le 30 juin 1889 : 1° au milieu de la joue gauche ; 2° à la paupière inférieure à l'angle externe, cette blessure est pénétrante ; 3° à la tempe gauche. Ces morsures ont saigné. Une heure après, elles ont été lavées avec un liquide qui n'a laissé aucune trace de cautérisation.

Le chien mordeur a été reconnu enragé par M. Aldasson, vétérinaire à Tolosa.

Manuel a été traité du 9 au 28 juillet (traitement commencé 9 jours après la morsure). Il a été pris de la rage le 21 août et est mort le 24 août. Le malade a été observé par le Dr Irigoyen.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE[1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — SEPTEMBRE 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	»	**1**	»	**4**	**7**	»	»	»
Morsures à la tête et à la figure — multiples	»	**1**		»	**3**		»	»	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	4	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	3	»	»	»	»	»
Morsures aux mains — simples	»	**7**	**12**	»	**12**	**42**	»	**4**	**9**
Morsures aux mains — multiples	»	**5**		»	**30**		»	**5**	
Cautérisations efficaces	»	»	»	2	»	»	2	»	»
— *inefficaces*	7	»	»	23	»	»	6	»	»
Pas de cautérisation	5	»	»	17	»	»	1	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	**1**	**2**	»	**7**	**28**	»	**3**	**7**
Morsures aux membres et au tronc — multiples	»	**1**		»	**21**		»	**4**	
Cautérisations efficaces	»	»	»	5	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	2	»	»	11	»	»	5	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	12	»	»	2	»	»
Habits déchirés	2	»	»	22	»	»	7	»	»
Morsures à nu	»	»	»	6	»	»	»	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	»	»	»	**3**	**3**	»	»	»
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	»	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	3	»	»	»	»	»
Habits déchirés	»	»	»	3	»	»	»	»	»
Morsures à nu	»	»	»	3	»	»	»	»	»
Totaux. Français et Algériens	..	**11**	**15**	..	**63**	**80**	..	**12**	**16**
Totaux. Etrangers	..	**4**		..	**17**		..	**4**	
		A			B			C	
TOTAL GÉNÉRAL					**111**				

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 103 fois ; chats, 4 fois ; vaches, 2 fois ; bœuf, 1 fois ; porc, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. NOVEMBRE 1889. N° 11

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR LE ROLE DE LA RATE DANS LES MALADIES INFECTIEUSES

Par M. J. BARDACH.

Cherchant à élucider la question du rôle de la rate dans les maladies infectieuses, je me suis posé le problème d'enlever cet organe à une série de chiens, pour étudier la réaction de leur organisme vis-à-vis de telle ou telle maladie infectieuse, à laquelle les chiens normaux restaient réfractaires.

On sait que les chiens ne prennent jamais le charbon dans les conditions habituelles de contagion. Dans la Russie méridionale, où cette maladie est très fréquente parmi les troupeaux de brebis, il y a toujours une quantité de chiens qui dévorent sans se contagionner les cadavres charbonneux ; de plus, ce n'est pas seulement alors par la voie de l'intestin que l'infection est possible, car les chiens, étant souvent mordus les uns par les autres. peuvent ainsi s'introduire directement le virus dans le sang, et pourtant ils ne meurent pas du charbon. J'ai vu, dans des expériences de laboratoire qui ont porté sur dix chiens, qu'une inoculation sous-cutanée de 1 à 5 centimètres cubes de culture très virulente ne produisait pas autre chose qu'une infiltration plus ou moins grande au point inoculé ; la température ne dépassait pas les limites normales, et, en somme, les animaux restaient presque complètement bien portants.

Ces faits sont entièrement d'accord avec ce que l'on sait sur la résistance des chiens aux divers modes naturels ou artificiels de contagion charbonneuse (Brauell, Renault, Bollinger, etc.).

Pour me rendre compte du rôle de la rate, je devais évidemment exclure tout autre facteur, et adopter par suite un mode d'inoculation conduisant à ce résultat. Pour cela, les cultures charbonneuses furent introduites directement dans le sang. C'est dans la veine crurale que j'injectais 1 centimètre cube de la culture. Qu'il me soit permis de dire quelques mots sur les chiens dératés, avant d'aborder la description de mes expériences.

On sait, depuis longtemps, que les chiens supportent très bien l'extirpation de la rate ; beaucoup d'entre eux guérissent par première intention et se rétablissent complètement en 72 heures ; quelques-uns se portent si bien dès le début, qu'on ne croirait jamais qu'ils ont été soumis à une aussi grave opération. Dans les cas où les sutures ne se rejoignent pas, la plaie reste ouverte, mais elle se maintient aseptique et se referme au bout de deux semaines au plus. Quoique les chiens reviennent généralement à leur poids primitif déjà vers la fin de la troisième semaine, et le dépassent même quelques fois [1], je ne les employais pour mes expériences qu'après un mois, quand il ne leur restait plus aucun symptôme anormal.

En ce qui concerne la voracité décrite par plusieurs auteurs comme un des traits caractéristiques des chiens dératés, je l'ai souvent observée, mais, comme elle n'existait pas dans la majorité des cas, et comme je l'avais souvent constatée au même degré chez les chiens à rate non amputée, je crois pouvoir affirmer qu'elle ne peut pas être considérée comme caractéristique, et surtout comme donnant une preuve d'un trouble de fonctions quelconque.

Je n'ai pas non plus observé d'accroissement de la sensation de soif ; quant à la recrudescence de la sécrétion rénale, constatée par plusieurs auteurs, je ne l'ai observée que dans la minorité des cas.

Les chiens dératés restent en bon état tant que les conditions extérieures restent favorables, mais il suffit qu'elles cessent de

1. Ce fait a du reste été constaté antérieurement à nous par Schindler et Mosler.

l'être, que le local soit mauvais, peu aéré, que les oscillations de température soient grandes, que la nourriture soit insuffisante, pour que ces animaux tombent malades et succombent même parfois. C'est surtout le froid que les chiens dératés supportent péniblement (comme l'a justement constaté Mosler) : pendant un temps d'hiver très froid, j'ai constaté trois cas de pneumonie, à laquelle succombèrent des chiens dératés, tandis que des chiens normaux, placés en même temps dans le même local, restèrent complètement indifférents au froid. Ce fait pourrait dépendre de ce que les échanges étant devenus plus énergiques, les éléments usés envahissent les tissus et le sang sans pouvoir être normalement résorbés par l'organisme, qui est dépouillé d'une grande partie de ses phagocytes. Mosler a aussi observé que les chiens dératés étaient très exposés à contracter des pneumonies.

Je vais aborder maintenant la description de mes expériences.

Le 22 septembre 1887, une émulsion d'un centimètre cube de culture sporifère sur gélose, culture tuant la brebis et le lapin après 48 heures, fut injectée dans la veine fémorale de trois chiens dératés et de trois chiens normaux. La rate avait été amputée au mois de mars de la même année. Avant l'expérience, les chiens, grands de taille et gras, étaient bien portants. Voici quels étaient les poids des chiens dératés I, II et III, et de trois chiens témoins IV, V et VI.

Le chien nº	I	dératé	pèse	11,542	grammes.
—	II	—	—	12,679	—
—	III	—	—	11,452	—
Le chien nº	IV	témoin	—	14,315	—
—	V	—	—	11,861	—
—	VI	—	—	11,043	—

1º Voici maintenant le tableau des températures à partir du jour de l'opération :

	22	23	24	25	26	27	28	29
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	39,1-39,5	39,1-39,5	41,7-42,1	37,5- +				
II	39,2-39,1	39,0-39,2	41,0-41,8	41,9-34,0	+			
III	38,7-38,5	39,5-40,9	41,8-41,2	42,1- +				
IV	38,7-39,2	39,5-41,2	41,0-41,1	38,9-39,2	39,2-39,1	39,5-39,2	38,7-38,5	39,0-39,1
V	39,2-39,2	40,0-41,4	41,7-40,9	38,2-38,9	38,8-39,1	39,4-39,7	39,1-38,7	38,8-39,1
VI	38,9-39,2	39,3-40,2	41,3-41,8	41,2-37,5	38,2-39,1	38,9-39,1	39,2-39,7	39,1-38,8

L'inoculation avait été faite le 22 septembre à 5 heures du soir. Jusqu'au matin du 24, tous les chiens avaient l'air complètement normal: le matin du 24, ils refusent de prendre leur repas ordinaire, deviennent très apathiques, se tenant à peine debout; les chiens I, II et VI ont la dysenterie. Des cultures sur plaques furent faites avec leur sang. On pouvait observer dans les préparations microscopiques faites avec ce sang des bâtonnets à bouts rectangulaires, qui se coloraient uniformément bien. Dans le courant de la journée les chiens ne mangèrent point, restèrent couchés, ne se relevant qu'avec beaucoup de difficulté pour se coucher de nouveau. Vers le soir les chiens IV et V se sentaient mieux et prirent un peu de nourriture liquide. Le 25 septembre, le chien I ne bouge plus et succombe vers midi. Le chien III, aussi très faible, succombe vers le soir. Les chiens II et IV continuaient à avoir la dysenterie, qui diminue chez le chien VI. La nuit du 26 septembre, le dernier des chiens dératés succombe. Les chiens IV et V se sentaient mieux, leur température s'abaissa, ils aboyaient gaiement, mangèrent et burent fort bien. Le chien VI resta faible, mangea et but sans appétit.

Le 26 septembre, on trouva dans les cultures sur plaques. parmi d'autres colonies de microbes, des colonies de bacilles charbonneux très caractéristiques. Les préparations, faites avec des colonies, contenaient des bactéridies caractéristiques ; les ensemencements sur la gélose et la gélatine avaient aussi le mode de croissance caractéristique pour le charbon.

L'autopsie du chien I eut lieu le 25 septembre. Rien d'anormal à l'endroit de l'inoculation ; veines sous-cutanées très injectées; fort œdème hémorrhagique dans la région du cou et de la poitrine ; foie très hypérémique et agrandi ; glandes lymphatiques du mésentère hyperplasiées ; reins hypertrophiés, leurs deux couches hypérémiées ; les glandes sus-rénales hypertrophiées ; la moelle des os longs en état de ramollissement rouge ; le poumon droit très hypérémié et son lobe inférieur infiltré ; glande thyroïde très volumineuse.

Les bactéridies sont de dimension et de couleur normales sur les préparations étalées, prises dans tous les organes, l'œdème et le sang. Dans les coupes du foie on trouve des bactéridies libres dans les vaisseaux et dans les espaces interlobulaires ;

dans la moelle des os elles sont aussi libres et en dehors des cellules. Les ensemencements sur plaques, faits aux dépens de tous les organes et du sang, donnent des cultures pures de charbon. Le contenu intestinal ensemencé sur plaques produit, parmi des colonies de microbes étrangers, des colonies charbonneuses, où les bactéridies sont très caractéristiques.

Autopsie du chien II : Pas d'œdème à l'endroit de l'injection ; veines sous-cutanées remplies de sang ; une transsudation sanguine dans la cavité abdominale ; foie en état de dégénération graisseuse ; reins hypérémiés dans leurs deux couches, contenant toutes les deux de minuscules hémorrhagies. Les intestins, surtout les plaques de Peyer, sont très hypérémiés ; les glandes mésentériques sont fortement enflammées, et leur volume anormalement augmenté. Une masse de granulations rouges, du volume d'un grain de millet jusqu'à celui d'un gros pois, sont dispersées sur les feuillets viscéral et parenchymateux du mésentère, et sur la face inférieure du diaphragme.

Les préparations étalées démontrent que ces granulations sont presque exclusivement composées de lymphocytes. La cavité du péricarde contient un peu de liquide sanguinolent. On trouve des bactéridies dans les préparations faites avec différents organes et avec du sang, dont les ensemencements donnent partout des résultats positifs.

Autopsie du chien III : Pas d'œdème à l'endroit de l'injection, mais tout le tissu abdominal sous-cutané, de même que la région pharyngienne, sont œdémateux ; inflammation hémorrhagique des organes de la cavité viscérale et des intestins ; liquide sanguin dans le péricarde, poumons très hypérémiés et contenant de grandes extravasations ; ramollissement rouge de la moelle des os longs des extrémités postérieures ; le nombre des glandes lymphatiques n'est pas augmenté, mais elles sont toutes hypérémiées ; on trouve des bactéridies libres sur toutes les préparations, prises dans le sang, les organes, les œdèmes et la moelle des os. Les ensemencements donnent des résultats positifs.

Depuis le 27 septembre, les trois chiens de contrôle se portent très bien, mangent et boivent avec un accroissement d'appétit. Le chien IV n'a plus de dysenterie. La santé et la température étant normales chez tous, on ne continue à mesurer cette dernière que pendant quatre jours encore.

La seconde expérience fut faite le 12 *novembre*, sur six chiens dont trois avaient eu la rate extirpée près de deux mois d'avance. Les chiens de contrôle étaient de petite taille et d'un poids comparativement bien moindre que celui des chiens dératés. On leur injecte à tous un centimètre cube d'émulsion de culture sur gélose.

Voici, comme ci-dessus, le tableau des poids et des températures :

Le chien n°	I	dératé	pesait	10,429	grammes.
—	II	—	—	12,679	—
—	III	—	—	11,452	—
Le chien n°	IV	témoin	—	5,930	—
—	V	—	—	6,339	—
—	VI	—	—	7,975	—

	12	13	14	15	16	17	18	19
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	38,7-39,1	39,0-39,2	41,8-41,0	41,0-40,5	40,3-40,0	38,0-38,5	38,7-38,7	39,1-39,0
II	38,5-39,1	39,6-41,0	41,6-41,6	+				
III	38,8-38,8	39,6-41,1	40,9-41,0	41,2-41,5	38,9-40,5	40,8-39,9	39,2-38,7	39,1-39,2
IV	39,1-38,7	39,1-40,2	40,5-40,5	41,4-41,5	40,9 +			
V	38,6-38,5	38,8-39,1	39,5-41,0	41,2-41,1	36,5-36,5	+		
VI	38,9-39,1	39,1-39,7	41,2-41,0	41,2-41,0	40,9-41,0	41,2-41,0	40,3-40,5	40,0-38,7

Le matin du 13 novembre, tous les chiens étaient gais et prenaient leur nourriture habituelle. La température des chiens II et III s'éleva fortement vers le soir et ils devinrent apathiques. Pas de dysenterie. Forte élévation de température le matin du 14 novembre chez tous les chiens, hormis le n° V ; dysenterie considérable chez les quatre premiers chiens, excréments muqueux et sanguins, avec lesquels on fit des cultures positives sur plaques.

Tous les chiens restent couchés et ne mangent point ; l'urine du n° II est sanglante. Le 15 novembre ils sont tous très apathiques, et le II succombe pendant la nuit.

Autopsie : Œdème sous-cutané très prononcé dans la région cervicale et inguinale ; pas d'œdème à l'endroit de l'injection ; exsudation sanguine dans la cavité pleurale ; foyers hémorrhagiques dans les poumons ; exsudation sanguine dans le péricarde ; glandes bronchiales très développées et d'un rouge foncé intense ; exsudation sanguine dans la cavité mésentérique ;

fausses membranes parmi les intestins; foie fortement hypertrophié et hypérémié; reins très hypérémiés dans leur couche corticale où l'on voit de grands foyers hémorrhagiques; liquide sanguin dans la vessie ; glande thyroïde fortement agrandie et hypérémiée ; les glandes du mésentère ne le sont pas ; la moelle des os longs est en état de ramollissement rouge.

Les préparations faites avec les organes et le sang contiennent des bactéridies. On trouve sur les préparations étalées, prises dans la glande thyroïde, des bâtonnets normaux en même temps que d'autres bien plus grêles et à bords rongés. Les ensemencements sur la gélatine et la gélose donnent des cultures caractéristiques du charbon ; ceux de la glande thyroïde ne germent que dans un cas sur trois.

16 *novembre*. Pas de dysenterie chez les chiens I et III ; l'appétit leur revient ; le VI est très faible ; le V ne réagit plus aux impressions extérieures ; le IV succombe soudain vers midi.

Autopsie : Œdème hémorrhagique dans la région cervicale ; forte injection sanguine dans les poumons ; cœur dilaté surtout dans sa moitié droite, sang liquide dans les deux ventricules ; glandes bronchiales un peu hypérémiées, ainsi que la glande thyroïde ; rate très agrandie et flasque ; le foie, les reins et les glandes mésentériques sont très hypérémiées ; la moelle des os ne l'est que peu. On trouve des bactéridies caractéristiques sur toutes les préparations étalées et dans les ensemencements faits avec tous les organes et le sang.

17 *novembre*. Mort du chien n° V. *Autopsie :* Forte inflammation hémorrhagique des intestins grêles ; la rate, hypérémiée, a presque le double de sa grandeur normale ; inflammation hémorrhagique du foie et des reins ; forte hypérémie des glandes mésentériques ; pas de changements tranchés dans le cœur et les poumons ; fort œdème sous-cutané dans la région cervicale ; hypérémie insignifiante de la glande thyroïde et de la moelle des os ; bactéridies caractéristiques sur les préparations étalées et dans les ensemencements des divers organes.

Le même jour, le chien VI est très faible et amaigri ; les nos I et III se rétablissent visiblement.

18 *novembre*. Le chien VI a de l'appétit, les autres se sentent très bien. Le chien VI s'est complètement rétabli pendant les jours suivants.

IIIe expérience. Le 9 décembre on injecte à 10 *chiens, dont* 5 *dératés*, une émulsion d'un centimètre cube de culture sporifère, tuant la brebis.

Voici le tableau des poids et des températures :

Le chien n°	I	dératé	pesait	11,656	grammes.
—	II	—	—	8,998	—
—	III	—	—	16,973	—
—	IV	—	—	16,563	—
—	V	—	—	14,410	—
Le chien n°	VI	témoin	—	11,337	—
—	VII	—	—	7,771	—
—	VIII	—	—	11,452	—
—	IX	—	—	15,133	—
—	X	—	—	10,225	—

	9	10	11	12	13	14	15	16
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	38,5-38,7	38,5-39,6	40,9-41,2	36,9 +				
II	38,8-39,1	38,9-39,2	40,6-41,0	40,7-39,9	38,5 +			
III	39,0-39,2	39,1-39,1	41,0-41,2	41,0-38,9	40,0-40,0	39,6-39,9	39,1-39,4	39,4-39,1
IV	39,2-39,0	39,1-39,1	39,5-39,5	40,2-38,7	38,9-39,1	39,2-39,5	39,4-39,1	38,7-39,1
V	38,7-38,5	38,9-39,6	40,1-40,5	36,6-35,9	+			
VI	39,0-38,9	39,1-39,6	40,6-41,1	41,1-40,9	40,9-40,7	40,0-39,9	40,2-38,7	38,4-39,5
VII	38,2-38,5	38,8-39,1	41,0-41,5	41,2-36,7	+			
VIII	38,9-39,1	39,1-39,5	40,4-40,9	40,1-37,9	39,0-39,3	39,1-39,4	39,0-39,5	38,9-39,2
IX	39,1-39,0	39,0-38,9	41,2-40,7	39,6-39,6	39,1-38,4	38,7-39,1	38,8-39,1	38,6-39,0
X	38,9-39,5	39,0-40,0	41,6-40,8	40,5-40,2	40,0-39,5	39,1-37,6	39,1-39,1	39,1-39,1

Jusqu'au matin du 11 décembre, les chiens se sentent bien, mangent et sont gais ; mais à partir de ce moment les n^os I, II, V et VII deviennent très apathiques, ont de la dysenterie ; les autres, sauf le IV, sont très faibles, mangent peu et sans appétit.

12 *décembre*. Mort du chien I. *Autopsie :* Œdème hémorrhagique à l'endroit de l'injection, faible œdème sous-cutané sur l'abdomen ; un peu d'exsudat séreux et sanguin dans la cavité pleurétique ; augmentation du volume et de la quantité des glandes bronchiales, d'une couleur rouge foncé ; glande thyroïde très hypertrophiée et hypérémiée ; forte hypérémie des poumons ; pas d'exsudat dans la cavité mésentérique ; hypertrophie des glandes mésentériques et inguinales ; forte hypérémie du foie, des reins et de la moelle des os ; les préparations et les ensemencements donnent des cultures pures de charbon.

Le chien IV se rétablit complètement après une faible élévation de température, de courte durée. Les nos V et VII agonisent et meurent le lendemain.

Autopsie du chien V : Pas d'œdème sous-cutané; un peu de liquide sanguin dans la cavité pleurale; faible hypérémie des glandes bronchiales ; œdème séreux dans le médiastin antérieur; forte hypérémie du foie, des reins, des glandes mésentériques, de la moelle des os et de la glande thyroïde; dissémination de taches hémorrhagiques punctiformes sur les glandes folliculaires de l'intestin. Bactéridies dans les ensemencements et les préparations.

Autopsie du chien VII : Fort œdème sous-cutané dans la région du fémur; pas d'œdème sur l'abdomen ; dans la région cervicale, fort œdème pénétrant à travers les muscles dans l'ouverture thoracique supérieure; faible hypérémie des poumons; pas de transsudation dans le péricarde et la plèvre; glandes mésentériques rougeâtres; rate très hypertrophiée; le foie et les reins très hypérémiés; pas d'hypérémie considérable dans la moelle des os et la glande thyroïde. Bactéridies caractéristiques dans les préparations et dans les ensemencements.

Le chien II succomba vers le soir du même jour.

Autopsie : Exsudat séreux et sanguin dans les cavités pleurale et péricardique; toute la région cervicale œdématiée; l'œdème se répand à travers les muscles, jusqu'à la région de la trachée, dont le tissu est aussi œdémateux; la glande thyroïde, le foie, la moelle des os, les reins et les glandes bronchiales sont fortement hypérémiés; ces dernières sont rouges et laissent écouler un liquide sanguin pendant l'incision. Sur les préparations, bâtonnets normaux à côté d'autres grêles et rongés, en état d'involution. Les ensemencements faits avec la glande thyroïde, aussi bien qu'avec les autres organes et le sang, donnent des colonies charbonneuses caractéristiques. Les autres chiens se remirent bientôt complètement.

La IVe expérience fut faite sur quatre chiens, dont deux dératés. Ils reçoivent, le 11 janvier 1888, à 5 heures du soir, une injection d'une seringue pleine d'émulsion de culture sporifère sur gélose.

Le chien n° I dératé pesait 14,519 grammes.
— II — — 11,452 —
Le chien n° III témoin — 11,043 —
— IV — — 11,861 —

	11	12	13	14	15	16	17	18
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	38,9-39,2	39,0-38,9	41,1-41,5	42,1 +				
II	38,8-39,0	39,1-39,5	40,4-41,2	41,1-40,9	40,4 +			
III	38,7 39,2	38,0-39,1	40,1-40,8	40,1-38,1	38,0-38,5	38,5-38,9	39,1-39,5	39,1-39,1
IV	38,8-39,2	39,2-39,1	40,9-41,1	39,6-39,9	39,6-39,9	38,3-39,5	39,1-39,4	38,9-39,1

Le 13 janvier, les quatre chiens sont malades; le I devient très apathique, reste couché, ne mange pas; les autres prennent un peu de nourriture. Pas de dysenterie.

14 janvier. Mort du chien I.

Autopsie : Au point d'injection, grand œdème se répandant jusqu'aux aînes et sur le côté opposé; œdème de la région cervicale; hypertrophie des glandes mésentériques; granulations en forme de pois, dont quelques-unes très volumineuses, sur la membrane viscérale du péritoine; à l'aide de préparations étalées, on voit que ces granulations sont composées de très petits lymphocytes; le foie et la moelle des os sont très hypérémiés. Sur les préparations de la glande thyroïde, on trouve des bâtonnets grêles ou en forme de chapelets; les ensemencements faits avec cette glande, le sang et tous les organes, donnent des cultures pures de charbon.

Les chiens III et IV sont plus gais; ils mangent et boivent avec appétit; le II est très faible et succombe le 15 janvier.

Autopsie du chien II : Œdème séreux, peu considérable sur l'abdomen: exsudat séreux-sanguin dans le péricarde; un peu de sérosité sanguine dans la cavité du péritoine; intestins remplis d'un mucus sanguin de couleur fauve; inflammation hémorrhagique de toutes les glandes intestinales; hypérémie du foie, des reins, des glandes mésentériques, de la moelle des os, des glandes bronchiales et de la glande thyroïde. Sur les préparations, bâtonnets normalement colorés. Les ensemencements donnent des cultures pures; le développement de ceux de la glande thyroïde est en retard sur les autres.

Les deux chiens témoins sont complètement rétablis; leurs températures et fonctions sont normales.

La V[e] expérience fut faite le 28 janvier, à 5 heures du soir, sur six chiens, dont trois dératés, qui reçoivent tous une injection d'un centimètre cube d'émulsion de culture très virulente sur gélose.

Le chien n°	I	dératé	pesait	14,519 grammes.
—	II	—	—	11,861 —
—	III	—	—	12,679 —
Le chien n°	IV	témoin	—	12,270 —
—	V	—	—	10,625 —
—	VI	—	—	9,816 —

	28	29	30	31	1	2	3	4
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	38,7-38,5	38,5-39,1	40,8-40,9	41,2 +				
II	38,2-39,1	38,9-39,2	39,9-41,1	+				
III	39,1-38,7	38,7-38,9	40,4-40,7	41,0-40,1	39,9-40,2	38,9-39,5	38,9-39,3	39,1-39,0
IV	38,8-39,5	39,0-39,6	40,1-40,5	40,0-40,1	39,9-40,5	39,7-39,8	39,0-39,1	38,7-39,1
V	39,1-39,2	38,8-39,5	41,1-40,7	40,0-39,5	39,0-38,0	38,1-39,1	39,1-39,2	39,1-39,0
VI	39,1-39,5	39,0-39,3	40,9-40,7	40,2-40,5	40,1-40,2	39,9-39,7	39,1-39,8	39,0-39,1

Jusqu'au 30 janvier, les chiens se sentent bien, leurs fonctions restent normales.

Le 30 janvier, on constate une élévation de température chez tous les chiens, excepté chez le II; celui-ci reste couché, quoique sa température soit peu élevée; on le trouve mort le matin du 31 janvier; tous les autres chiens sont très malades, restent couchés et ne se lèvent qu'avec difficulté à l'appel.

Autopsie du chien II : Fort œdème de l'abdomen et du cou; hypertrophie des glandes cervicales et de la glande thyroïde; œdème gélatineux du péricarde; les muscles du cœur très flasques; glandes bronchiales très hypérémiées; extravasations dans le diaphragme; forte hypérémie du foie, des reins, des glandes mésentériques et de la moelle des os. Bâtonnets caractéristiques du charbon sur les préparations étalées et dans les ensemencements.

Le chien I, dératé, succombe le soir du 31 janvier.

Autopsie : Pas d'œdème sous-cutané; dans la cavité thoracique, on ne trouve pas autre chose qu'une hypérémie peu considérable des poumons et plusieurs extravasations dans la plèvre; dans la cavité péritonéale, exsudation formidable séreuse-san-

guine, inflammation hémorrhagique des intestins et surtout de leurs glandes; hypérémie de tous les organes parenchymateux et de la moelle des os; la glande thyroïde n'est que peu hypérémiée; les bactéridies qu'on y trouve sont considérablement plus grêles et se colorent avec moins d'intensité que les bactéridies normales; les ensemencements donnent une épaisse culture de charbon.

Le III, chien dératé, est très faible, les autres le sont aussi, mais ils prennent pourtant de la nourriture.

1er *février*. Les chiens restés vivants se rétablissent complètement pendant les jours suivants.

La VIe expérience fut faite le 20 février à 5 heures du soir. On injecta 1 centimètre cube d'émulsion de culture sporifère sur gélose à quatre chiens, dont deux dératés.

Le chien n°	I	dératé	pesait	12,883	grammes.
—	II	—	—	12,065	—
Le chien n°	III	témoin	—	10,225	—
—	IV	—	—	11,861	—

	20	21	22	23	24	25	26	27
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	38,9-39,2	38,9-39,2	40,7-41,1	41,4-39,5	36,8 +			
II	38,1-38,4	38,2-38,8	41,0 +					
III	38,5-38,9	39,1-39,7	41,2-41,0	41,4-41,5	41,0 +			
IV	38,7-39,1	39,2-39,1	40,5-40,9	40,4-40,9	40,0-37,8	37,9-38,5	37,9-38,9	39,1-39,6

Comme dans les expériences précédentes, l'élévation de température est accompagnée de lassitude et d'une perte d'appétit. Le chien II a une température très élevée pendant le jour du 22, et succombe subitement vers le soir. *Autopsie :* œdème séreux insignifiant dans la région cervicale; pas d'exsudat dans la cavité pleurétique; plusieurs taches hémorrhagiques; ventricule droit du cœur fortement dilaté, ainsi que le cœur entier lui-même; du sang liquide dans le ventricule; rien qu'une hypérémie insignifiante des organes parenchymateux de la cavité viscérale; moelle des os un peu hypérémiée; des bacilles charbonneux sur les préparations; ensemencements positifs.

Le 23 février, les chiens sont apathiques, le n° IV seul prend

de la nourriture. Le matin du 24 février, le chien n° I est dans une prostration complète : le n° III est très faible ; vers 5 heures du soir ils succombent tous les deux.

Autopsie du chien I : Œdème gélatineux répandu à l'endroit de l'injection ; glandes cervicales fortement hypertrophiées et hypérémiées ; la glande thyroïde très agrandie ; un peu de liquide séreux dans la plèvre et le péricarde ; forte hypérémie des poumons, du foie, des glandes mésentériques, et surtout des reins ; moelle des os en état de ramollissement rouge ; cultures pures du charbon dans les préparations et les ensemencements.

Autopsie du chien III : Œdème considérable dans la région cervicale ; hypérémie des glandes ; un peu de liquide séreux-sanguin dans le péricarde ; foie et reins fortement hypérémiés ; la moelle des os ne l'est que faiblement ; forte hypérémie de la rate, dont le tissu est flasque et d'une couleur cerise foncée ; beaucoup de bâtonnets normaux sur les préparations prises dans la rate ; bactéridies caractéristiques sur celles de la glande thyroïde et des autres organes ; colonies caractéristiques du charbon dans les ensemencements faits avec la rate et les autres organes.

La VIIe expérience fut faite le 5 mars, à 5 heures du soir, sur quatre chiens, dont deux dératés. On leur a inoculé, dans le sang, 1 centimètre cube de culture sporifère sur gélose.

Le chien n°	I	dératé pesait	13,922	grammes.
—	II	— —	16,155	—
Le chien n°	III	témoin —	13,088	—
—	IV	— —	11,452	—

	5	6	7	8	9	10	11	12
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	38,8-38,9	39,1-39,4	39,9-40,8	40,9-41,2	40,7-40,4	39,5-36,5	+	
II	38,3-39,0	39,0-39,2	39,5-40,2	41,8-36,5	+			
III	39,6-39,1	38,7-39,2	39,9-40,1	30,8-40,5	39,9-40,2	39,5-40,0	38,7-39,0	39,1-39,5
IV	38,6-39,1	39,1-39,2	39,8-41,2	42,1 +				

Ce n'est qu'après quarante-huit heures que la température commença à s'élever. Le matin du 8 mars, le chien IV est dans

une prostration complète; les autres, surtout le n° II, sont aussi très faibles.

Le n° IV succombe vers midi. *Autopsie :* Fort œdème sous-cutané, surtout dans la région cervicale ; hypérémie du poumon ; extravasation dans la plèvre ; rate très volumineuse d'une couleur cerise foncée ; inflammation hémorrhagique des intestins ; le foie, les reins et les glandes mésentériques très hypérémiés ; la moelle des os ne l'est que peu ; pas de changements anormaux dans la glande thyroïde ; sur les préparations de la rate, on trouve des bâtonnets normaux à côté d'autres qui ne se colorent que faiblement ; cultures pures de charbon dans les ensemencements.

Le chien n° II succomba le 9 mars. *Autopsie:* Forte hypérémie des glandes cervicales ; le cou œdémateux ; œdème gélatineux de la cavité du péricarde ; infiltrations dans les deux sommets des poumons très hypérémiés ; agglomération de petites néoformations lymphatiques de lymphocytes sur les deux feuillets du mésentère. Forte hypérémie du foie et des reins ; glandes mésentériques rougeâtres, fortement hyperplasiées ; moelle des os très hypérémiée ; sur les préparations, prises dans la glande thyroïde, des bâtonnets normaux à côté d'autres, dont la forme est très changée et qui ne se colorent que faiblement ; cultures pures de charbon dans les ensemencements faits avec les organes et le sang.

Le chien n° I succombe dans la nuit du 11 mars. *Autopsie:* Pas d'œdème ; les glandes lymphatiques du corps entier très hypertrophiées ; la glande thyroïde considérablement plus volumineuse ; un exsudat séreux-sanguin dans le péricarde ; glandes bronchiales très hypérémiées ; des petites glandes rougeâtres, lymphatiques, de néoformation, sur le feuillet viscéral du péritoine ; inflammation hémorrhagique des glandes de l'intestin. Le foie, les reins et la moelle des os fortement hypérémiés ; charbon caractéristique sur les préparations et les ensemencements.

La VIIIe expérience fut faite le 8 avril avec quatre chiens, dont deux dératés. On leur inocula 1 centimètre cube de culture virulente sporifère.

Le chien nº I	dératé pesait	12,883	grammes.
— II	— —	16,564	—
Le chien nº III	témoin —	12,270	—
— IV	— —	11,452	—

	8	9	10	11	12	13	14	15
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	38,8-39,2	39,2-39,5	41,2-41,1	40,4-40,0	36,1 +			
II	39,1-39,4	39,6-39,6	41,5-40,2	40,2-40,1	39,6-39,7	38,5-39,6	39,1-39,2	38,3-38,8
III	38,4-38,9	39,1-39,8	40,7-40,8	40,2-39,6	38,9-39,7	38,5-39,1	39,6-39,1	39,1-39,2
IV	38,9-39,9	39,1-38,9	40,5-40,4	41,2-38,9	39,1-39,2	39,0-39,4	39,1-39,5	39,0-39,1

L'élévation de température est accompagnée d'une diminution d'appétit et de soif.

Le chien nº I a une forte dysenterie ; bactéridies dans les cultures faites avec ses déjections ; il succombe le 12 avril. *Autopsie :* Œdème à l'endroit de l'injection et dans la région cervicale ; glandes thyroïdes de volume normal ; glandes cervicales fortement hypérémiées ; glandes bronchiales très hypertrophiées ; infiltration dans les deux poumons ; foie et glandes mésentériques fortement hypérémiées ; des foyers hémorrhagiques et des ulcérations dans les intestins ; la moelle des os en état de ramollissement rouge ; des bâtonnets charbonneux sur les préparations et dans les ensemencements faits avec le sang et les organes.

La IXe expérience fut faite le 8 mai avec deux chiens, dont l'un dératé ; on leur injecta 1 centimètre cube de culture sporifère sur gélose.

Le chien nº I	dératé pesait	12,679	grammes.
— nº II	témoin —	11,861	—

	8	9	10	11	12	13	14	15
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	38,9-39,2	39,2-39,5	40,9-41,5	+				
II	38,7-38,9	39,5-39,9	40,7-40,7	37,8-38,9	39,0-39,5	39,1-39,2	38,7-38,5	38,5-38,7

Le 10 mai, la température s'éleva chez les deux chiens ; le nº II ne perdit pourtant pas l'appétit ; le nº I est très apathique

et succombe pendant la nuit du 11 mai. *Autopsie :* Fort œdème de l'abdomen, pénétrant parmi les muscles ; la glande thyroïde et les glandes bronchiales fortement hypérémiées ; péricardite hémorrhagique ; le foie, les reins et les glandes mésentériques fortement hypérémiées ; la moelle des os en état de ramollissement rouge ; bactéridies sur les préparations, et ensemencements positifs faits avec les organes et le sang. — Le chien de contrôle se rétablit complètement.

La Xe expérience fut faite avec deux chiens, dont l'un dératé ; on leur injecta 1 centimètre cube d'émulsion de culture sporifère sur gélose.

Le chien n° I dératé pesait 13,497 grammes.
— n° II témoin — 11,452 —

	12	13	14	15	16	17	18	19
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	39,1-39,5	38,9-40,0	41,5-41,1	36,8 +				
II	39,3-39,9	38,9-39,2	40,8-40,6	38,9-39,1	38,5-39,2	38,5-39,2	39,2-39,1	38,9-39,2

Le 13 mai, les deux chiens mangent et boivent comme de coutume ; le 14, le chien dératé est très malade ; il se relève avec peine ; le témoin continue à manger. quoique sa température soit très élevée ; le 15 mai, le chien dératé est extrêmement faible ; l'autre s'est complètement rétabli ; le chien dératé succombe dans l'après-midi du même jour. *Autopsie :* Pas d'œdème du tissu sous-cutané ; glandes thyroïdes et cervicales très hypertrophiés ; hypérémie des poumons et des glandes bronchiales hypertrophiées ; liquide séreux-sanguin dans le péricarde ; foie, reins, et glandes mésentériques fortement hypérémiés et hypertrophiées ; moelle des os en état de ramollissement rouge ; bactéridies caractéristiques sur les préparations et dans les ensemencements. Le chien de contrôle s'est complètement rétabli.

La XIe et dernière expérience fut faite le 18 mai à 5 heures du soir, avec deux chiens, dont l'un dératé. On leur injecta, dans la veine fémorale, 1 centimètre cube d'émulsion de culture sporifère sur gélose.

Le chien n° I dératé pesait 12,883 grammes.
— n° II témoin — 12,065 —

	18	19	20	21	22	23	24	25
	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.	m. s.
I	38,7-38,9	38,7-39,0	41,5-40,9	40,4 +				
II	38,5-38,8	38,7-39,1	39,9-41,1	40,8-40,0	38,1-38,5	38,5-39,4	38,5-39,1	38,8-39,2

Les deux chiens se sentent bien jusqu'au 20. Le matin de ce jour. le chien dératé est faible, ne mange ni ne boit, et reste couché ; le témoin est aussi apathique ; la faiblesse des deux chiens augmente dans l'après-midi ; le 21 leur état est le même, mais le chien dératé succombe soudain vers le soir ; l'autre, au contraire, se trouve visiblement mieux, et se rétablit complètement dans le cours des jours suivants.

Autopsie : Œdème hémorrhagique dans la région cervicale ; hypérémie et hyperplasie des glandes cervicales, forte hypérémie des poumons ; exsudat sanguin dans la cavité pleurétique ; la partie droite du cœur est remplie d'un liquide sanguin goudronneux ; les organes viscéraux, surtout le foie, sont très hypérémiés ; hyperplasie des glandes mésentériques ; ramollissement rouge de la moelle des os ; bactéridies caractéristiques sur les préparations et les ensemencements.

Voilà donc une série d'expériences portant sur 25 chiens dératés. Le tableau suivant nous montre que, sur ces 25 chiens, il en a succombé 19 aux inoculations charbonneuses dans la circulation générale, tandis que sur les 25 témoins il n'en a succombé que 5.

Expériences.	Chiens dératés.		Témoins.	
	Inoculés.	Morts.	Inoculés.	Morts.
I	3	3	3	0
II	3	1	3	2
III	5	3	5	1
IV	2	2	2	0
V	3	2	3	0
VI	2	2	2	1
VII	2	2	2	1
VIII	2	1	2	0
IX	1	1	1	0
X	1	1	1	0
XI	1	1	1	0

Il ne faut pas oublier que les injections du virus dans le sang produisent la maladie d'autant plus facilement, et tuent les chiens d'autant plus vite que le poids de ces animaux est moindre ; or, c'étaient toujours les chiens les moins lourds que j'ai pris comme *témoins*, préférant les plus forts pour leur faire subir l'amputation de la rate. La grande mortalité chez les chiens témoins, dans la seconde expérience, est due à ce qu'ils étaient moins lourds que les autres.

Une preuve que c'est le poids, indépendamment de l'âge, qui joue le rôle principal, peut être tirée du fait suivant : à diverses époques, j'ai injecté à 8 petits chiens adultes, intacts, à rate non amputée, pesant depuis 4,000 grammes jusqu'à 7,362 grammes, 1 centimètre cube de virus dans le sang. Cinq d'entre eux succombèrent au charbon. Les jeunes chiens de grande taille résistent quelquefois ; ceux de petite taille succombent sans exception.

On sait que les chiens ne prennent pas le charbon dans les conditions naturelles, c'est-à-dire que la réaction des cellules de l'organisme est assez forte pour détruire les bactéridies qui se sont introduites chez cet animal. Cette même réaction est aussi suffisante dans les cas d'inoculation artificielle sous-cutanée de bactéridies ; elle est suffisante même alors qu'elle est assez insignifiante pour ne produire aucune élévation sensible de température. La réaction de l'organisme est bien plus forte, quand on introduit le virus dans le sang, milieu favorable à son développement. Alors l'animal devient malade, il présente toujours de la fièvre, mais c'est l'organisme qui, dans les conditions naturelles, prend le dessus dans la majorité des cas (dans 20 sur 25).

Il est évident que c'est à l'activité de la rate qu'est dû ce résultat, parce que l'inverse a lieu dès que cet organe est éloigné : ce n'est que dans 6 cas sur 25 que la réaction des phagocytes conservés est assez forte pour que ce soit l'organisme qui prenne le dessus. Comme les chiens d'expérience et de contrôle étaient mis dans les mêmes conditions pendant le cours des expériences (avec cette seule différence que les chances d'infection et de mortalité étaient plus grandes pour les témoins à cause de leur poids plus léger), c'est évidemment au compte de l'absence de la rate que la différence de mortalité doit être mise.

Pour savoir si les chiens dératés, ayant déjà supporté impuné-

ment une inoculation charbonneuse, étaient réfractaires à une nouvelle infection, je fis, quelques mois après les expériences ci-dessus citées, deux séries d'observations sur les chiens dératés, restés vivants. Il va sans dire que je prenais comme terme de comparaison des témoins ayant déjà supporté la maladie du charbon. Chaque expérience a porté sur trois chiens.

Dans la première expérience, il n'y eut d'élévation de température, ni chez les chiens dératés, ni chez les témoins. On leur avait pourtant injecté, dans la veine fémorale, 1 centimètre cube d'une émulsion de culture sporifère sur gélose.

Dans la deuxième expérience, un des trois chiens dératés succomba au charbon; sa température s'était élevée jusqu'à 41°,5. Les deux autres chiens dératés et les témoins n'eurent même pas d'élévation de température. Tout cela prouve que ce n'est pas la rate seule qui intervient dans la production de l'immunité, mais que d'autres organes peuvent à eux seuls la créer. Cette immunité n'est pas constante chez les chiens dératés, ainsi que le prouve la mort d'un de ces dératés, après une injection nouvelle. Elle est au contraire constante chez les chiens normaux.

Les expériences suivantes prouvent qu'elle persiste, après ablation de la rate, chez les chiens qui la possèdent. J'ai extirpé la rate à trois chiens qui avaient subi une inoculation charbonneuse et s'en étaient tout à fait rétablis. Deux mois après, je leur ai de nouveau inoculé le charbon. Aucun d'eux n'eut d'élévation de température, même la plus insignifiante. Ainsi, on peut dire que les bactéridies introduites dans l'organisme par la voie sanguine, avaient trouvé des phagocytes déjà adaptés à réagir contre elles, et que la réaction de l'organisme vis-à-vis de ces microbes pathogènes n'était pas différente, après une première atteinte de la maladie, de ce qu'elle est d'ordinaire pour les microbes les plus inoffensifs tels que le *B. subtilis*, par exemple.

J'ai retrouvé les mêmes résultats dans trois autres expériences entreprises à diverses époques. Deux chiens qui avaient eu le charbon et s'en étaient complètement rétablis, furent soumis à une amputation de la rate. Un ou deux mois après cette opération, on leur inocula de nouveau le charbon. Tous se montrèrent réfractaires et ne manifestèrent même aucune réaction vis-à-vis du microbe infectieux inoculé.

Les expériences suivantes, peu nombreuses, il est vrai, mais

concordantes entre elles, prouvent que la réaction de l'organisme et l'acquisition de l'immunité sont surtout le fait des éléments cellulaires. Une émulsion de poudre de charbon de bois, très fine et stérilisée, fut injectée, en volume de 40cc, à diverses périodes, dans la veine fémorale de quatre grands chiens. dont le poids oscillait entre 14,315 grammes et 18,405 grammes. Deux jours après, chacun d'eux reçut 1 centimètre cube d'une culture de bactéridies.

La fièvre habituelle se manifesta chez ces chiens après 36 à 60 heures; leur température monta jusqu'à 41°,8, et ils moururent en présentant habituellement le tableau anatomo-pathologique caractéristique du charbon. Sur les préparations étalées faites avec la pulpe de la rate, du foie, de la moelle des os, des glandes lymphatiques, on trouva beaucoup de poudre de charbon dans les cellules, et une grande quantité de bactéridies libres.

D'après leur dimension et leurs poids, ces chiens devaient résister au charbon, et la maladie ne devait persister chez eux que 48 heures. La fièvre a duré au contraire chez eux pendant 3 ou 4 jours, et les chiens ont fini par succomber. De ce qu'on trouve chez eux les phagocytes remplis de particules de charbon et les bactéridies libres. je conclus que les phagocytes ayant absorbé le charbon ne sont plus capables de réagir de même vis-à-vis des bactéridies, et laissent à celles-ci le temps et la liberté de pulluler et de tuer l'animal.

Ces expériences prouvent en même temps que le pouvoir de réaction de l'organisme contre les microbes n'est pas dû aux propriétés chimiques des organes, des tissus et des humeurs de l'organisme. Quel changement chimique du milieu ambiant pourrait être produit par de la poudre stérilisée de charbon, surtout complètement englobée par les cellules?

Voici d'ailleurs d'autres expériences montrant que ce n'est pas à cause de ses propriétés chimiques que tel ou tel tissu peut servir de milieu favorable au développement des bactéridies. Une rate qu'on venait d'extirper a été coupée en petits morceaux, dont chacun a été flambé sur toutes ses surfaces libres, à l'aide d'une baguette de verre fortement chauffée. Chacun de ces fragments, placé dans une chambre humide, a reçu, dans sa partie centrale, une inoculation de bacilles du charbon sans

spores, apportés au moyen d'une pipette stérilisée, puis on l'a abandonné à la température ordinaire.

Après 48 heures on y pouvait constater un développement tout à fait normal du bacille charbonneux. Une souris, inoculée avec une émulsion d'un des fragments de cette rate ensemencée 72 heures avant, est morte du charbon en 72 heures, avec une rate caractéristique et une quantité de bactéridies. Un lapin, inoculé avec la même émulsion que la souris, mourut aussi du charbon 48 heures après l'inoculation, avec une grande quantité de bactéridies dans le sang et dans les organes. Quarante-cinq expériences pareilles à celles-ci, faites au moyen de 15 rates, m'ont toujours donné les mêmes résultats positifs. J'en conclus que les bactéridies peuvent parfaitement vivre et se multiplier sans perdre leur virulence dans une rate qui a perdu ses propriétés biologiques.

Nous venons de voir des chiens devenir réfractaires au au charbon, après en avoir éprouvé une fois les atteintes. J'ai inoculé 1 centimètre cube de culture dans le sang de deux chiens qui avaient déjà eu cette maladie : aucun d'eux ne tomba malade, et leur température ne monta pas au-dessus de la normale. J'ai même vu quatre chiens, qui avaient une première fois résisté au charbon, supporter sans souffrir l'injection de grandes quantités de culture, jusqu'à 20 centimètres cubes d'une culture virulente sur gélose, qui tuait les lapins en 48 heures. Leur appétit ne diminua pas, toutes leurs fonctions et la température restèrent normales.

On pourrait expliquer cette résistance en disant que l'organisme qui a surmonté une première atteinte de la maladie s'est épuisé ou modifié de manière à devenir impropre à une nouvelle culture. Pour élucider cette question, j'ai extirpé, à différentes époques, la rate à deux chiens, qui avaient eu le charbon, dont la température s'était élevée à 41°,5, et qui avaient présenté de la fièvre pendant 48 à 60 heures. Je choisissais les chiens les plus forts, ce qui me permettait d'extirper la rate sans danger, de deux à cinq jours après la fin de l'accès fébrile. On faisait aussitôt, avec ces deux rates, des préparations étalées, des cultures dans différents milieux et des cultures sur plaques.

On ne trouva de bactéridies ni sur les préparations étalées ni sur les coupes. Les ensemencements restèrent stériles. Sur les

fragments de ces deux rates, coupées en morceaux, stérilisées comme je l'ai dit plus haut, et conservées dans une chambre humide, j'ai ensemencé, à l'aide d'une fine pipette stérilisée, des bactéridies sans spores, et j'ai pu partout constater, 48 heures après, une multiplication abondante de la semence. Les bactéridies avaient conservé leur virulence : elles tuaient le lapin en 48 heures; en outre, elles se coloraient fortement comme les bactéries normales.

Dix-huit expériences faites avec six rates, à raison de trois ensemencements par rate, ont donné toujours les mêmes résultats. Les bactéridies avaient toute leur virulence et tuaient sûrement le lapin.

J'ai fait neuf ensemencements analogues avec trois rates de chiens tués un jour après l'abaissement de la température. Je m'étais convaincu, soit à l'aide de préparations microscopiques, soit au moyen de cultures qui restèrent stériles, qu'il n'y avait pas, à ce moment, de bactéridies. Ces ensemencements dans la rate ont tous donné des résultats positifs, comme les précédents.

On peut donc conclure que la résistance à l'injection n'est pas le fait d'un épuisement du milieu, ni d'une élaboration, dans ce milieu, de produits nouveaux, enrayant le développement des bactéridies. S'il y avait quelque chose de pareil, nous en aurions sûrement trouvé quelques traces dans ces expériences, faites sur des tissus examinés aussitôt ou presque aussitôt après la maladie.

De même que nos premières expériences sur les 25 chiens dératés et 25 témoins nous donnent le droit d'affirmer que c'est à la fonction de la rate qu'est due la victoire de l'organisme, dans la lutte contre les bactéridies qui, introduites par le sang, l'ont envahi en entier, de même les expériences que nous venons de rapporter, faites avec des rates récemment extirpées, nous permettent de croire que c'est, non à des questions d'ordre chimique, mais au rôle actif des phagocytes de la rate qu'est dû le succès dans cette lutte contre les bactéridies. Nous pouvons affirmer que la lutte est terminée, que l'activité cellulaire a cessé vers le moment de l'abaissement de la température fébrile : je n'ai jamais trouvé de bactéridies sur les nombreuses coupes de rate. extirpées deux jours après l'abaissement de température ; de même je n'ai jamais trouvé de bactéridies dans les rates de chiens tués 12 heures après la chute de la fièvre.

Les données expérimentales acquises dans le travail sur les fonctions de la rate comme organe phagocytaire, protecteur du sang et fournisseur de phagocytes aux autres tissus de l'organisme, peuvent être mises en relation avec les autres données scientifiques sur les fonctions de la rate.

Tout le monde est d'accord sur quelques-unes de ces fonctions, tandis que sur d'autres les opinions sont, ou dissemblables, ou flottantes et peu précises. Il y a accord sur le rôle de la rate dans la production des globules blancs du sang. Sa participation dans la régénération de ces corpuscules est prouvée par sa structure histologique (corps de Malpighi, corpuscules lymphatiques), par la production de mitoses dans divers procès normaux et pathologiques, par le nombre plus grand des corpuscules blancs dans le sang veineux splénique que dans le sang artériel affluent, par la diminution temporaire du nombre des globules blancs dans le sang du chien après extirpation de la rate.

Le rôle de cet organe comme agent destructeur des globules rouges est aussi indiscutable : on sait depuis longtemps que parmi les éléments de la pulpe de la rate il y a des cellules contenant des hématies. Ces hématies sont quelquefois intactes; d'autres fois on n'en trouve que des débris; elles sont parfois réduites à leur pigment. Ainsi on peut observer tous les degrés dans la marche de l'absorption des corpuscules rouges. Plusieurs observateurs (Kouznetzoff) ont même eu la chance de voir directement au microscope des corpuscules rouges englobés par de grandes cellules amiboïdes. La composition chimique de la rate, en particulier sa richesse en fer, prouve aussi qu'il y a dans ce tissu une dégénérescence active des globules du sang.

Mais ces deux points sont les seuls sur lesquels l'accord soit fait entre les savants. L'existence dans la rate de cellules de transition entre les globules blancs et rouges, de ce qu'on appelle les cellules rouges à noyaux, a conduit divers savants à voir dans la rate un organe de production de corpuscules rouges (Funke, Bizzozero, Salvioli). Sans vouloir nier la réalité de cette observation, on peut dire que le fait n'a été constaté que rarement, et presque toujours dans des cas pathologiques. Encore est-il possible que les corpuscules rouges ne pénètrent

dans la rate qu'en provenance d'un autre organe, par exemple de la moelle des os, et se contentent d'y subir la dernière phase du cycle de leur développement (Paschutine).

Le rôle de la rate comme agent producteur des hématies reste donc douteux. Son rôle dans la digestion intestinale l'est encore plus. M. Schiff a soutenu et cherché à démontrer par l'expérience (et Herzen a poursuivi la thèse), que la rate joue un rôle dans l'élaboration d'un ferment du pancréas, qui arrive à cet organe en passant par le système vasculaire commun. Mais aucun observateur (Heidenhain et autres) n'a encore confirmé cette idée. De même la richesse de la rate en produits d'échange (Gscheidlen) a donné à croire qu'il s'y opère de vastes procès métaboliques, et de là vient l'intérêt de la découverte faite par Baccelli, dans la rate, d'un ferment acide digérant l'albumine. Mais cette observation reste isolée, et Valentiner, dans son résumé du travail de Baccelli, dit qu'il n'a pu la répéter.

Cet aperçu très court montre que les seuls rôles positifs qu'on soit en droit d'attribuer à la rate sont ceux d'agent de destruction des globules rouges, et de production des globules blancs.

Mais les physiologistes ne se sont pas contentés de ces deux notions, et ont cherché à en trouver d'autres. Malheureusement la meilleure des méthodes à suivre pour y arriver, l'extirpation de la rate, n'a pas donné de résultats décisifs. On a bien vu que dans la grande majorité des cas, et dans des conditions normales, cette opération n'entraîne (chiens) aucun résultat nuisible pour les fonctions vitales. Mais si on se souvient qu'il n'y a presque pas de maladies organiques générales auxquelles la rate ne prenne une part active, il deviendra clair que l'étude de ses fonctions, au moins dans certaines conditions, doit être poursuivie par d'autres voies que la voie physiologique.

On sait que la rate n'apparaît qu'aux degrés supérieurs de l'échelle animale, chez les vertébrés ; encore même fait-elle défaut chez les Amphioxus et les Myxines. Elle n'existe qu'à l'état rudimentaire chez la Lamproie, et on ne la trouve définitivement développée que chez les Ganoïdes.

C'est à peu près en même temps qu'apparaissent les glandes lymphatiques : non développées chez les animaux inférieurs,

on les constate au contraire nettement sur les poissons (Leydig, Muller).

C'est au dépens du mésoderme que se développent la rate ainsi que les glandes lymphatiques. Les travaux de M. Metchnikoff ont montré que c'est aussi de cette couche que proviennent les phagocytes des vertébrés, notamment les cellules servant à englober et à digérer les éléments affaiblis et dégénérés, et tous les corps étrangers, morts et vivants, introduits dans l'organisme.

Les bactéries et les champignons, inoculés dans le sang, sont digérés, d'une part par les leucocytes du sang lui-même (Metchnikoff), de l'autre par les cellules de la pulpe de la rate (Wyssokovitch et autres).

Dans l'ordre des faits pathologiques, je me bornerai à citer l'énorme augmentation du volume de la rate dans la fièvre récurrente, dans laquelle Metchnikoff a pu suivre l'englobement et la digestion des spirilles par les microphages de la rate du singe. Je citerai aussi la malaria, dans laquelle les macrophages de la rate de l'homme englobent et digèrent, quand il y a guérison, les globules rouges affaiblis contenant les coccidies malariques (Guarnieri et autres).

On peut rapprocher ces faits des observations de Gaulé sur la pulpe de la rate de la grenouille. Ce savant a vu une des cellules amiboïdes de cet organe se glisser dans la direction d'un ver parasitaire, l'englober, se retirer pour le digérer, et en faire autant pour un autre ver.

Ainsi toutes les données embryologiques, expérimentales, histologiques, anatomo-pathologiques s'accordent à affirmer le rôle phagocytaire de la rate. C'est l'organe producteur de phagocytes pour l'organisme entier, et l'agent protecteur du sang vis-à-vis de l'invasion des microbes étrangers, comme le charbon.

Ce travail a été terminé en mai 1888, et j'en ai communiqué alors les résultats à la Société des naturalistes d'Odessa. Depuis, en novembre 1888 (*Vratch.* nos 45 et 47), a paru un article de Kourloff intitulé : *Sur la question du rôle de la rate dans la lutte de l'organisme contre les microbes introduits dans le sang de l'animal.* Dans ce mémoire, M. Kourloff se croit autorisé à dénier

à la rate tout rôle principal dans cette lutte, et à la mettre au même niveau que les autres organes.

Une série d'expériences de ce savant a consisté à inoculer dans le sang des lapins des microbes pathogènes pour ces animaux à l'état normal (anthrax, choléra des poules, *staphylococcus aureus*). On voit tout de suite combien il est difficile, avec ces microbes, de comparer avec les réactions organiques des lapins dératés celles des lapins normaux, que les microbes tuent déjà, et quel critérium insuffisant peuvent fournir ces expériences pour élucider la question du rôle de la rate.

M. Kourloff convient lui-même « que dans toutes les expériences citées, le rôle de la rate pouvait ne pas se manifester, les microbes inoculés étant tellement virulents pour l'animal qu'il ne pouvait être question d'une lutte entre eux et les leucocytes ».

D'un autre côté les différences dans la durée de survie des lapins normaux et des lapins dératés dépendent trop étroitement d'une foule de propriétés délicates et individuelles de l'organisme, de ses divers organes et de ses divers tissus, pour qu'on puisse les accepter comme un critérium dans une étude sur les fonctions de la rate.

Une autre série de 11 expériences a été faite par M. Kourloff sur des lapins, avec des microbes peu ou point pathogènes pour eux (*Streptococcus erysipelatis*, *bacillus diphteriæ* (Emmerich), *bacillus neapolitanus*, et rouget des porcs). L'inoculation était toujours sous-cutanée.

Dans une de ces expériences, le lapin dératé et le lapin de contrôle résistèrent à l'inoculation sous-cutanée de 1 centimètre cube d'une culture de diphtérie âgée de 24 heures.

Dans une autre expérience d'inoculation sous-cutanée de 5^{cc} de culture de 2e passage de *Bacillus neapolitanus*, le lapin dératé survécut, le lapin de contrôle mourut en 24 jours.

Dans quatre expériences où l'on a inoculé de grandes quantités (15^{cc}) de cultures de rouget des porcs, très affaiblies, à ce qu'il semble, tous les lapins survécurent.

Dans cinq expériences enfin (inoculation du *streptococcus erysipelatis*, du *B. neapolitanus*, et du *B. diphteriæ*) tous les lapins, dératés et témoins, succombèrent. Dans quatre de ces expé-

riences, les lapins dératés sont morts 24 heures, et plus, avant les lapins témoins.

Je crois pouvoir conclure de ce court résumé que la méthode d'inoculation de M. Kourloff ne permettait pas d'atteindre l'objet poursuivi. Il aurait fallu d'abord, pour exclure tout autre facteur, faire des inoculations non sous-cutanées, mais intraveineuses; il aurait fallu aussi ne pas choisir, pour la plupart des expériences, un microbe aussi actif que la bactéridie, qui tuait les lapins témoins, et, pour quelques autres, des microbes aussi peu actifs que celui du rouget. Jusqu'à ce que M. Kourloff ait répété ses expériences en inoculant dans le sang des microbes mieux choisis, j'estime que ses conclusions ne sont pas admissibles.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE SÉMÉIOLOGIQUE ET PATHOGÉNIQUE DE LA RAGE

2e MÉMOIRE

Par le Dr G. FERRÉ
professeur agrégé à la Faculté de médecine de Bordeaux.

Dans un mémoire précédent (25 avril 1888), nous avons indiqué le résultat de nos recherches sur les phénomènes respiratoires que présente le lapin rabique inoculé par trépanation. Nous avons montré, notamment, qu'il existait une phase d'accélération se présentant quelquefois dans le courant du 4e jour, le plus souvent au 5e jour. Nous avons émis l'hypothèse que ce phénomène pouvait être attribué à des troubles bulbaires, car, par une série d'inoculations faites avec des bulbes de lapins sacrifiés pendant la période d'incubation, nous avons constaté que la partie inférieure du plancher du 4e ventricule devenait virulente entre le milieu du 4e jour et le commencement du 5e.

Dans une nouvelle série de recherches, nous avons essayé de vérifier si les faits que nous avions indiqués se produisaient chez des animaux inoculés avec des virus plus virulents, et si l'hypothèse que nous avions émise pour les interpréter pouvait être maintenue, malgré la constatation de phénomènes que nous énoncerons plus loin.

Les expériences actuelles ont porté sur 50 lapins inoculés par trépanation. Ces animaux ont formé deux groupes : l'un de 34 animaux ayant fourni 15 séries; l'autre de 16, appartenant à 11 séries. Un bulbe du 178e passage a servi à inoculer les animaux de début du 1er groupe; un bulbe du 215e passage a servi pour le second groupe : nous devons ces deux bulbes à l'obligeance de M. Roux.

I

Sur les 50 animaux mis en expérience, la respiration a pu être complètement enregistrée 44 fois : 38 fois, la phase d'accélération précédant le ralentissement final a pu être constatée : 5 fois à la fin du 3e jour, 26 fois dans le courant du 4e, 7 fois au 5e jour.

Si l'on veut bien se rappeler que, dans nos précédentes recherches, cette phase d'accélération se produisait dans le courant du 5e jour dans la majorité des cas, on peut constater, dans les cas actuels, l'existence d'une avance d'un jour en moyenne.

Sur des animaux pris dans des séries de différents ordres, nous avons recherché à quel moment la partie inférieure du plancher du 4e ventricule devenait virulente.

Les animaux a^{180}, d^{181}, c^{180}, d^{182}, ont été sacrifiés respectivement au commencement du 5e jour, à la fin du 4e jour, au commencement du 4e jour et à la fin du 3e : la partie précédemment indiquée du bulbe a produit la rage.

D'autre part, les bulbes de a^{226} sacrifié au milieu du 2e jour, de a^{230} à la fin du 2e jour, de b^{227}, b^{230} sacrifiés au milieu du 3e jour, c^{230} à la fin du 3e jour, n'ont pas produit la rage.

Il semble donc que le plancher du 4e ventricule ne devienne virulent qu'au début du 4e jour, peut-être, dans quelques cas, à la fin du 3e. Ici, nous constatons encore une avance dans le début de la virulence, car, dans nos recherches précédentes, la même partie du bulbe devenait virulente entre le milieu du 4e jour et le commencement du 5e.

Les faits que nous avions indiqués dans notre première série de recherches se vérifient donc complètement : les faits actuels n'en diffèrent que par une avance due certainement à l'augmentation de virulence.

II

Dans cette seconde série d'expériences, nous ne constatons pas seulement la vérification des premiers résultats, mais nous pouvons remarquer qu'il existe, comme auparavant, une concordance entre le moment où se produit la phase d'accélération et

celui où les centres respiratoires deviennent virulents. Par conséquent, l'hypothèse que nous avions émise au sujet de cette concordance se trouve encore ici légitimée. Cependant, on pourrait se demander si quelque autre facteur n'interviendrait pas dans l'explication de la production de ces troubles respiratoires; si, par exemple, cette période d'accélération ne pourrait pas être attribuée à une élévation de la température de l'animal, puisqu'on sait, d'après les recherches de nombreux physiologistes et en particulier de Ch. Richet, que le rythme respiratoire s'accélère avec l'élévation de la température, et inversement. Il était d'autant plus intéressant pour nous d'expérimenter à ce sujet, que nous avons appris de M. Pasteur lui-même, et de M. Roux, qu'il se produisait, dans le courant de la période d'incubation, une légère élévation de température [1].

Sur les 50 animaux mis en expérience, la courbe de la température a été déterminée d'une façon complète 47 fois; dans la plupart des cas, par des observations bi-quotidiennes, quelquefois tri-quotidiennes. Voici le résultat moyen de nos recherches :

La température de l'animal, prise constamment dans le rectum et avec le même thermomètre, s'élève quelquefois immédiatement après l'inoculation (17 fois sur 47 animaux : 13 fois pendant le 2e jour, 3 fois au commencement du 3e, 1 fois à la fin du 1er); puis, elle baisse si elle s'est élevée, ou bien elle varie à peine de quelques dixièmes de degré s'il n'y a pas eu d'élévation immédiate. Elle subit ensuite de faibles variations jusqu'au 5e jour, époque à laquelle, la plupart du temps, elle commence à monter. Elle atteint son maximum, dans la majorité des cas, le 6e jour (14 fois le 5e jour, 30 fois le 6e jour, 3 fois le 7e jour). A partir de ce moment, elle recommence à descendre pour décroître considérablement jusqu'à la mort de l'animal.

D'une manière générale, il se produit dans la marche de la température un maximum relatif au 2e jour, maximum qui n'est pas constant, et un maximum absolu au 6e jour, maximum qui est constant. Ce maximum est constant, car nous ne l'avons vu manquer, dans nos recherches, qu'une seule fois, chez le lapin *a* [223], et encore a-t-il existé chez cet animal une légère élévation de 0°,2.

1. Cette élévation de température à été bien étudiée par MM. Hogyes et Babès. Leurs travaux ont paru dans ces *Annales*.

Nous avons calculé les valeurs moyennes du maximum relatif et du maximum absolu :

m, le maximum relatif = 0°,71.

M, le maximum absolu = 1°,5.

Si l'accélération respiratoire était fonction de l'élévation de la température, le maximum d'accélération devrait coïncider avec le maximum thermique. Or, ce dernier se produit au 6e jour, tandis que le maximum d'accélération respiratoire se produit au 4e. Il y a même plus ; dans beaucoup de cas, le ralentissement respiratoire final a déjà commencé à se produire, lorsque le maximum thermique est atteint. Par conséquent, l'accélération respiratoire ne paraît pas être fonction de l'élévation de la température.

Cependant, dans certains cas, la loi qui lie le rythme respiratoire et l'élévation thermique ne paraît pas perdre tous ses droits : en effet, nous avons pu constater qu'il se produisait, dans certains cas peu nombreux, en dehors de l'accélération au 4e jour, une nouvelle accélération au moment où s'effectuait le maximum absolu ; dans d'autres cas, l'accélération se maintenait jusqu'au moment où se produisait le maximum absolu.

Si l'on se rappelle que les centres respiratoires sont virulents dès le début du quatrième jour, on voit que leurs fonctions normales sont, dès ce moment, dans la plupart des cas, profondément troublées. Cela est tellement vrai que, si l'on examine les tracés respiratoires, pris tout à fait au début de la période d'incubation, c'est-à-dire vers le deuxième jour, on constate qu'à l'élévation thermique constituant le maximum relatif, correspond une accélération respiratoire. Quand les centres respiratoires ne sont pas encore virulents, ils fonctionnent normalement.

Nous conclurons donc, d'une manière générale, que l'accélération respiratoire observée au moment où le plancher du quatrième ventricule devient virulent, paraît être indépendante des phénomènes thermiques qui se produisent chez l'animal en expérience.

III

D'autres faits, tirés d'un dernier ordre de recherches, tendent à démontrer le trouble profond porté par le virus rabique dans le fonctionnement respiratoire. En recherchant les causes de la mort dans la rage, nous avons été amenés à

essayer de réchauffer les animaux qui, pendant la période paralytique, se refroidissent rapidement. Cette opération, qui d'ailleurs n'a pour résultat que de prolonger de un jour, deux jours, quelquefois trois jours, la vie des animaux, a été pratiquée de la façon suivante : dans une grande étuve de 100 décimètres cubes environ, mise à notre disposition par M. Jolyet, nous avons introduit les animaux en expérience, en laissant une libre circulation d'air, pour qu'ils ne soient pas maintenus dans un milieu confiné. Par tâtonnement, nous avons fait varier la température de l'étuve, de manière que la température de l'animal se rapproche de la normale. Pour les animaux que nous avons réchauffés, animaux dont la température était de 34°, 35°6, 36°8, 34°, etc., au moment où l'opération a été pratiquée, la température de l'étuve a dû être portée à 32° en moyenne. Sur les neuf animaux sur lesquels cette expérience a été pratiquée, nous avons vu rarement varier le type décroissant du rythme respiratoire de la période paralytique, quoique cependant on ait pu noter des augmentations de température de 4°. Il y a même plus, dans un cas, la respiration a été accélérée, alors que la température avait considérablement baissé. Inutile d'ajouter que nous avons pris les tracés sur les animaux maintenus dans l'étuve, et que le thermomètre n'a été placé dans leur rectum qu'après la prise des tracés.

CONCLUSIONS.

De ce qui précède nous pouvons conclure :

1° Que les phénomènes, indiqués dans notre première série de recherches, se reproduisent dans le même ordre, mais avec une légère avance pour des virus plus virulents ;

2° Que l'avance constatée pour ces symptômes coïncide avec une avance dans la virulence de la partie inférieure du plancher du 4e ventricule ;

3° Que l'apparition de ces symptômes ne peut pas être attribuée à l'élévation thermique, puisque le maximum absolu de température se produit à une époque plus reculée ;

4° Que l'hypothèse émise par nous au sujet de ces troubles, hypothèse les attribuant à l'envahissement des centres respiratoires par le virus, reçoit une plus ample justification du fait de cette nouvelle série de recherches.

VIBRIO METCHNIKOVI

EXALTATION DE SA VIRULENCE

Par M. N. GAMALÉIA.

I

Les lapins sont très peu sensibles à l'infection par le *vibrio Metchnikovi.*

Les jeunes lapins succombent à l'inoculation sous-cutanée de 2-3^{cc} de sang de pigeon de passage. A l'autopsie, ils présentent un œdème gélatineux abondant, l'intestin diarrhéique, très peu de vibrions dans le sang. Ceux-ci n'acquièrent pas une virulence exaltée, car les passages successifs sur les lapins ne réussissent pas par cette méthode.

L'inoculation intraveineuse par 4^{cc} de sang de pigeon est très rapidement mortelle. Les animaux morts présentent les mêmes lésions typiques de l'intestin, mais aussi une grande abondance de vibrions dans le sang. Pourtant, ces vibrions paraissent plutôt affaiblis dans leur virulence, et les passages sur les lapins s'arrêtent après la deuxième ou la troisième infection. En même temps, dans les passages, apparaît une modification des lésions des lapins morts : tandis que le premier animal avait la rate petite, l'épithélium intestinal desquammé, et beaucoup de vibrions libres, les lapins des 2 ou 3 passages suivants ont au contraire la rate hypérémiée et grande, des leucocytes dans l'intestin, et les vibrions sont emprisonnés dans les cellules.

Tout autres sont les résultats donnés par l'inoculation des lapins dans le poumon, à travers la paroi thoracique. Ce mode d'infection est plus facilement mortel. De plus, les vibrions pris dans l'épanchement pleural du lapin sont devenus plus virulents, de sorte qu'on peut, en puisant à cette source, diminuer la dose

mortelle, et la réduire, après plusieurs passages, à 1/16 de c. c., alors qu'elle était à l'origine de 2 ou 3^{cc}.

Il y a pourtant une condition pour la réussite de ces expériences, c'est que la dose inoculée soit toujours plus que suffisante pour tuer le lapin. C'est alors seulement qu'il meurt très vite, en 12 heures et même moins, sans gonflement de la rate et sans leucocytes dans l'épanchement pleurétique. Si, au contraire, on fait des sauts trop brusques dans les doses employées pour des passages successifs, si par exemple on passe de 4^{cc} à 1/2^{cc}, le lapin ne meurt que de 12 à 24 heures après l'infection, avec une rate hypérémiée et des leucocytes très nombreux dans l'épanchement pleurétique. Et la dose nécessaire pour tuer le lapin suivant doit être alors non pas diminuée, mais *augmentée*.

En somme, par des passages à travers le lapin, faits dans les conditions indiquées, nous produisons une réelle augmentation de virulence, qui se manifeste par ses quatre caractères ordinaires. Nous venons de parler de la diminution des doses mortelles. L'augmentation dans la rapidité de la mort dans les passages successifs faits avec la même dose, par ex. 2^{cc}, n'est pas moins marquée : on arrive à tuer les lapins en deux et même *une* heure, et malgré cette mort foudroyante, les lapins présentent toutes les lésions ordinaires : intestin rempli d'un liquide abondant avec épithélium exfolié et vibrions nombreux, rate exsangue, épanchement hémorragique, et sang du cœur peuplé de vibrions.

Le troisième indice de l'exaltation des virus, la suppression de l'immunité chez les animaux réfractaires au virus ordinaire, se retrouve également dans ce cas : le virus exalté par passage à travers le lapin tue facilement les poules, les moutons et les chiens, s'ils sont inoculés par la trachée dans les poumons.

Enfin, nous avons dit que les lapins de passage présentaient de plus en plus la généralisation du microbe dans les organes, ce qu'on pourrait appeler la *généralisation septicémique*, tandis que les lapins, inoculés par le virus ordinaire, ont une réaction locale et générale plus ou moins marquée, et les vibrions sont rares dans le sang de leur cœur.

II

L'exaltation de virulence que nous venons de décrire présente encore une particularité importante. Les cultures *in vitro*

de ce microbe, pris dans l'épanchement pleurétique ou dans le cœur, n'ont qu'une virulence ordinaire. Il en est de même pour ceux qu'on trouve dans le sang des pigeons inoculés par le virus exalté du lapin, dont la virulence n'est par suite pas héréditaire dans ces conditions. Il y a plus. Tous les vibrions, trouvés dans le corps d'un lapin de passage, paraissent n'avoir pas la même virulence, et ceux du cœur se montrent quelquefois moins virulents que ceux de l'épanchement pleural.

Comme cet épanchement est, d'après le mode d'infection adopté, le principal foyer de culture des vibrions chez les lapins, il faut admettre que c'est là que se trouvent le plus concentrés les produits de leur activité vitale, en particulier les substances toxiques qu'ils fabriquent, et que l'augmentation de la virulence y est liée à l'augmentation de la toxine. L'exaltation progressive de la virulence par passage au travers du lapin serait alors due à une augmentation progressive de la toxine par culture prolongée dans un milieu favorable et toujours le même, et la virulence extrême coïnciderait avec la quantité maximum de toxine. L'absence d'hérédité dans la virulence serait alors la diminution dans la production de la toxine ou sa suppression.

On peut prouver expérimentalement l'exactitude de cette interprétation. La toxine du *vibrio Metchnikovi* n'est pas chimiquement définie, mais nous pouvons l'isoler des cultures et l'étudier seule. Or, nous savons qu'elle a une action analogue à celle des microbes qui l'ont produite, et reproduit toutes les lésions de l'infection microbienne. Si on combine les effets de cette toxine avec ceux d'une injection de vibrions de virulence ordinaire, en inoculant simultanément une culture stérilisée et ces vibrions vivants, on reproduit exactement les phénomènes présentés par le virus de la plèvre du lapin. Par exemple, l'addition de quelques gouttes d'une culture vivante et fraîche à une culture toxique du microbe, stérilisée et vieille de deux semaines, permet de reproduire, quand on inocule le tout dans le poumon, non seulement les résultats qui pourraient être produits par la toxine seule, mais encore la généralisation de l'invasion microbienne dans l'intestin et dans le sang.

Ce fait nous conduit à conclure que c'est la toxine qui permet la généralisation microbienne, en supprimant la réaction locale et générale, — leucocytaire et fébrile, — à l'invasion. Car

ces deux modes de réaction du lapin à l'infection par le vibrion peu virulent, sont absents, tant dans les cas d'inoculation du virus de passage du lapin, que dans l'action combinée du vibrion vivant et de la toxine.

Ces inductions contribuent à définir le rôle des toxines microbiennes dans la genèse de la maladie ; ce sont des substances qui peuvent permettre aux microbes d'envahir le corps animal, qui les rendent pathogènes. Et la virulence, d'après nous, n'est que la faculté plus ou moins grande de fabriquer des toxines dans le corps vivant, la propriété toxinogène des microbes.

III

Nous venons de voir que le lapin, si résistant au *vibrio Metchnikovi*, peut néanmoins devenir, par l'emploi de certains artifices, un terrain extrêmement favorable à l'exaltation de sa virulence. Et ce n'est pas un cas exceptionnel. Ainsi nous avons trouvé, pour le choléra asiatique, que le rat blanc, animal plus réfractaire au vibrion indien que, par exemple, le cobaye, offre un milieu beaucoup plus propice à l'exaltation de sa virulence. Le rat succombe facilement à une inoculation du vibrion de Koch faite dans le poumon, à travers la paroi thoracique. Les passages successifs à travers les rats amènent la diminution progressive des doses mortelles, la rapidité croissante de la mort et l'envahissement de plus en plus complet de l'économie animale par le microbe[1]. On arrive ainsi à reproduire chez les rats une *septicémie cholérique*, avec nombreux vibrions dans le sang, et même, parfois, avec une *absence complète de lésions* dans le poumon et la plèvre inoculés. La virulence de l'épanchement pleurétique est plus grande que celle du sang du cœur. Cette exaltation ne persiste pas ordinairement non plus dans les cultures, qui sont pourtant plus abondantes et plus anaérobiotiques que lorsqu'elles sont faites avec des vibrions longtemps saprophytes.

Enfin, on peut reproduire les mêmes phénomènes de virulence exaltée, en ajoutant de la toxine stérile à des vibrions

1. Il faut ici aussi prévenir l'intervention de la réaction leucocytaire et fébrile, qui atténue la virulence, en employant des doses exagérées et toxiques.

vivants. Cette toxine spécifique, qui, isolée, reproduit les lésions cholériques et est aussi un vaccin, se prépare au moyen des cultures du microbe du choléra dans le bouillon de pieds de veau, stérilisées à 120°. On prouve ainsi que cette généralisation du vibrion indien. après les passages, n'est due qu'à la production abondante de la toxine dans un milieu chimique très favorable.

Nous revenons ainsi à des conclusions qui s'imposaient à nous par l'histoire du vibrion de Metchnikoff. L'animal, très résistant à l'infection, peut tout de même présenter dans ses humeurs une composition chimique plus favorable au développement du microbe que celle d'un animal sensible.

Ce fait nous oblige de distinguer deux facteurs dans ce qu'on appelle la prédisposition à l'infection : une *prédisposition humorale*, les humeurs plus ou moins propices à la vie du microbe ou plus ou moins fertiles en toxine [1], et la *prédisposition cellulaire*, c'est-à-dire la réaction leucocytaire et locale plus ou moins efficace.

Du reste, ces idées seront reprises dans nos recherches sur le choléra, où elles ont été étudiées avec plus de détails. J'ai dû me borner ici à les établir pour le *vibrio Metchnikovi*, avec lequel elles sont très nettes. J'ai obtenu les mêmes résultats avec le bacille de la peste bovine et celui de la fièvre typhoïde.

IV

Les expériences ci-dessous serviront à compléter les données précédentes sur l'infection du lapin par le *vibrio Metchnikovi*.

Le 22 juillet, à 10 heures, on inocule dans la circulation générale d'un lapin 4^cc de la culture fraîche de *vibrio Metchnikovi* dans du bouillon. Ce lapin meurt à 2 heures du soir. Beaucoup de vibrions dans le sang. Rate petite. intestin hypérémié avec des flocons d'épithélium et vibrions. L'émulsion de son sang est inoculée (4^cc) à un autre lapin dans la veine de l'oreille.

Le 23 juillet, ce lapin est encore vivant. On lui inocule par la même voie encore 1^cc de la culture. Il meurt vers 5 heures du soir. Il n'a pas de vibrions libres dans le sang. La rate est très grande et rouge foncé. Elle contient des vibrions emprisonnés dans les cellules.

1. Ces différences dans les humeurs extraites du corps, ont été mises en évidence par les recherches de Nutall, notamment de Buchner.

Le 25 juillet, un lapin est inoculé par 4^{cc} de culture[1] dans le sang. Il meurt vers le soir. On l'autopsie le lendemain. Rate petite. Beaucoup de vibrions dans le sang qui est inoculé à la dose de 4^{cc} à un jeune lapin. Celui-ci meurt vers 5 heures du soir. Rate un peu hypérémiée. Immédiatement après la mort, son sang ne contient que peu de vibrions, mais une heure après, ils sont très nombreux. Ce sang sert à l'inoculation d'un nouveau lapin (4^{cc}).

Celui-ci a, le 27 au matin, 40°,5. On lui inocule encore 4^{cc} de culture. Il meurt vers 5 heures. Beaucoup de vibrions dans le sang. Inoculation d'un nouveau lapin par 4^{cc} de son sang.

Ce dernier meurt pendant la nuit. Intestin typique. Plaques de Peyer gonflées. Les flocons nageant dans le liquide intestinal sont composés principalement de leucocytes mononucléaires, contenant des vibrions; l'épithélium est rare. Rate hypérémiée. Le sang du cœur est très riche en vibrions. Inoculation de 4^{cc} à un nouveau lapin qui meurt pendant la nuit. Beaucoup de vibrions dans le sang. Mêmes lésions. Inoculation de 4^{cc} de sang à un nouveau lapin, qui reste vivant.

Le 12 octobre 1888, à 10 heures du matin, un lapin reçoit dans le poumon droit, à travers la plèvre, 1^{cc} de sang d'un pigeon inoculé par le *vibrio Metchnikovi*. Le lapin meurt à 4 heures. Exsudation séreuse dans le péritoine, peuplée de vibrions; intestin très hypérémié, contenant aussi des vibrions; rate hypérémiée; exsudation rosée dans la plèvre droite avec de nombreux vibrions.

Le sang du cœur n'en contient pas et son ensemencement reste stérile.

On inocule 1^{cc} de l'épanchement pleurétique à un second lapin qui meurt dans la nuit. Son péritoine ne contient pas de liquide. L'intestin est hypérémié, et renferme des flocons d'épithélium et des vibrions. Rate exsangue; exsudation pleurétique sanguinolente. Le sang du cœur contient beaucoup de vibrions.

A 10 heures du matin, le 13 octobre, on inocule avec 1^{cc} et 1/8 de c.c. de l'exsudation pleurétique deux lapins qui meurent l'un à midi, l'autre à 3 heures, avec les lésions déjà décrites. Le sang du dernier mort ne contient pas de vibrions; l'autre en a beaucoup et est inoculé, sous le volume de $0^{cc},5$, à un grand lapin blanc qui meurt à 5 heures du soir. Son exsudation pleurale est inoculée, en volume de 1/16 de c.c, à un autre lapin qui meurt pendant la nuit, avec les phénomènes déjà décrits.

Le 20 septembre, à 10 heures du matin, un lapin reçoit dans le poumon droit 1^{cc} de sang de pigeon, mort du *vibrio Metchnikovi*. Il meurt à 2 heures. On inocule à un autre lapin 1^{cc} de son exsudation pleurétique. Celui-ci meurt dans la nuit. Beaucoup de vibrions dans le sang, dont on inocule $0^{cc},5$, à un autre lapin qui meurt le 21, vers 2 heures du soir. Il sert à inoculer ($0^{cc},25$) deux lapins, dont l'un vacciné. Le lapin neuf meurt dans la nuit. Rate exsangue, exsudation dans l'intestin et la plèvre; beaucoup de vibrions dans ce liquide,

1. Cette culture provenait du sang d'un lapin tué par le vibrion. On voit qu'elle n'était pas plus virulente que celle de la série précédente, qui provenait d'un pigeon.

ainsi que dans le sang du cœur. Le lapin vacciné meurt dans la journée du 22. Ni son exsudation pleurétique ni le sang du cœur ne contiennent de vibrions.

Le 27 septembre, à 10 heures du matin, on inocule 2^{cc} de sang de pigeon dans le poumon d'un lapin qui meurt à 2 heures du soir. On inocule 2^{cc} de son exsudation pleurale à un lapin neuf qui succombe une heure après, avec des vibrions très nombreux dans le sang.

Le 1er octobre on inocule 0^{cc},5 de l'épanchement pleurétique d'un lapin de passage à un lapin vacciné et à un témoin. Ce dernier meurt le soir : dans son épanchement pleurétique, culture pure de vibrions. L'autre succombe pendant la nuit. Le liquide accumulé dans sa plèvre droite contient un nombre très grand de leucocytes, dont la plupart sont bourrés de vibrions.

Le 21 novembre, on inocule 1^{cc} de l'épanchement pleurétique d'un lapin de passage à deux lapins, un vacciné et un témoin. Ce dernier meurt dans la nuit. Intestins diarrhéiques, vibrions dans l'épanchement pleurétique et dans le sang du cœur. Le lapin vacciné succombe dans la journée du 22. Pas d'exsudation pleurétique; poumons hépatisés, pas de vibrions dans le sang du cœur.

Le 26 octobre, un grand lapin reçoit dans le poumon 12^{cc} d'une culture du *vibrio Metchnikovi* dans le bouillon de pied de veau, non stérilisée, et vieille de 14 jours. Il reste vivant et bien portant.

Le 30 octobre, un lapin reçoit dans le poumon 8^{cc} d'un vaccin stérilisé du *vibrio Metchnikovi* avec 0^{cc},25 d'une culture vivante et fraîche du même vibrion. Il meurt dans la nuit. Rate non hyperémiée, sang du cœur rempli de vibrions.

REVUES ET ANALYSES

R. Stern. — Influence de la ventilation sur les microbes en suspension dans l'air. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. VII, p. 44-74, 1889.

Il y aurait une étude curieuse à faire sur la ventilation, qui ne serait du reste qu'un des chapitres de l'histoire des relations de la science et de l'hygiène. Le besoin de ventiler les habitations a été ressenti de tout temps, mais l'interprétation qu'on a donnée de ce besoin a fidèlement traduit les oscillations et les progrès de la science. Dès que la composition de l'air a été connue, on a cherché dans la composition de l'air confiné les raisons qui obligeaient à le renouveler. L'étude la plus précise qui ait été faite à ce sujet, celle de Leblanc, ayant conduit à conclure qu'il n'y avait aucune relation assurée entre le caractère irrespirable d'une atmosphère et sa richesse en acide carbonique, il a fallu chercher ailleurs, accuser des gaz qui n'y existent qu'en proportions infinitésimales, aller même plus loin, et arriver à ces substances presque insaisissables qu'on a appelées des miasmes. Ces notions ont abouti tout récemment aux travaux de M. Brown-Séquard et d'Arsonval. Quand l'étude des microbes s'est imposée à tous les esprits, on a fait de la ventilation une question de germes en suspension, et on s'est appliqué, avec un soin méritoire, à dénombrer le nombre de microbes vivant dans l'air que nous respirons.

On sait comment M. Pasteur a fécondé ce sujet, resté assez stérile avant lui. L'étude bactériologique de l'air a pris une importance croissante sur laquelle nous n'avons pas à insister, puisque, ce qui nous préoccupe en ce moment, c'est la ventilation, c'est-à-dire l'étude de l'air pris dans les appartements. Le premier, à notre connaissance, qui, après M. Pasteur, ait abordé autrement qu'en passant ce sujet est le Dr Miflet[1], qui sous l'inspiration de son maître, M. F. Cohn, a étudié qualitativement, en le faisant barboter dans des liqueurs altérables. l'air de diverses salles de travail ou d'hôpital. Il a trouvé partout des germes, cela va sans dire; quand il n'en a pas trouvé, c'est que le

1. Recherches sur les bactéries en suspension dans l'air. *Cohn's Beitræge*, t. III, p. 119, 1879.

liquide dont il se servait pour les rajeunir était impropre à cet usage, et son mémoire n'aurait rien ajouté aux constatations bien antérieures de M. Pasteur s'il n'avait apporté deux faits nouveaux.

Le premier, c'est que l'air d'une salle de typhoïques, renfermant de 5 à 7 malades, a laissé trois fois intactes, sur trois expériences, après 24 heures de barbotage. les liqueurs très altérables dans lesquelles on l'a fait passer. Il est juste de dire que la salle était soumise à une ventilation active, et fortement désinfectée avec de l'acide phénique. Un expérimentateur qui manquerait aujourd'hui de nous dire par quels moyens pratiques on obtenait ce merveilleux résultat de stériliser l'air d'une salle manquerait à tous ses devoirs. M. Miflet est plus excusable, mais on s'étonne malgré tout qu'il ait consigné en quelques lignes, dans son mémoire, ce résultat qui en forme aujourd'hui le point capital.

Il y en a un autre un peu moins surprenant, et entré aujourd'hui dans la science, c'est que deux fois, de l'air puisé à l'intérieur du sol, dans le jardin botanique et la cour de l'Institut de physiologie végétale de Breslau, a passé dans une solution d'extrait de malt sans la troubler. Il est vrai que deux fois aussi, il a troublé de l'extrait de viande parcouru par le même courant d'air que l'autre infusion, et cette circonstance peut faire soupçonner cet extrait de malt de n'avoir pas été très altérable; mais il s'était altéré ailleurs, et s'il a résisté dans ce cas, c'est sans doute que l'air puisé à l'intérieur du sol est moins chargé de microbes que l'air extérieur. On sait que Wernich démontrait à la même époque que l'air n'emportait pas facilement les germes à l'état humide exposés même à un assez fort courant, tandis qu'il enlevait facilement les germes desséchés et réduits en poussière.

Quoi qu'il en soit, ces notions étaient qualitatives, et en retard sous ce point de vue sur les expériences de M. Pasteur, qui étaient plus quantitatives. Cette notion de quantité, qui implique une numération, devait à son tour prendre pied dans la science, et on sait à ce sujet les laborieuses études de M. Miquel. Mais le sujet était difficile, et la statistique, à laquelle on s'est adressé pour l'étudier, devait fatalement se montrer là ce qu'elle est ailleurs, un moyen bien meilleur pour démontrer ce qu'on sait que pour découvrir ce qu'on ne sait pas. Tant qu'elle nous dit combien plus de germes il y a dans une salle d'hôpital que dans une chambre d'étudiant, on accepte volontiers ses affirmations; mais quand elle émet des assertions plus contestables *a priori*, quand elle croit pouvoir tirer de ses chiffres quelque fait nouveau et imprévu, on se retourne volontiers vers elle pour lui demander le degré de créance que méritent ses chiffres, et généralement toute statistique est bien embarrassée quand on lui pose cette question. Tant qu'elle ne compte que des unités abstraites, elle n'est guère exposée qu'à des

erreurs de numération. Mais à ces erreurs de numération viennent s'ajouter des erreurs d'interprétation quand elle sort du domaine des choses abstraites pour entrer dans celui des faits concrets et contingents. Un mort et un mort font deux morts; mais un typhoïque et un scarlatineux ne font pas deux malades, et un bacille du choléra ne peut pas entrer en addition avec un bacille de la pomme de terre. A côté de la *quantité*, dont la statistique n'est jamais sûre, il y a la *qualité*, dans l'infini détail de laquelle elle ne peut entrer, et toutes ses conclusions dans lesquelles entre cette notion de qualité ne peuvent être accueillies qu'avec réserve, ou même avec un doux scepticisme.

Si je fais ainsi quelques réserves, c'est que ce fétichisme de chiffres me semble dangereux. Quand je vois un savant consciencieux comme M. Miquel nous dire que « dans la majorité des cas, c'est l'atmosphère extérieure qui peuple de microbes les habitations réputées saines et hygiéniques » [1], j'ai peur que quelque zélateur de la statistique n'en tire la conclusion qu'il faut vivre les fenêtres closes.

Ce qu'il y a de désolant, c'est que ce même logicien rigoureux, après avoir pu tirer des travaux de M. Miquel cette conclusion antihygiénique, pourrait conclure aussi, du travail mentionné en tête de cet article, qu'il est inutile de ventiler un appartement.

Ce n'est pourtant pas cela qu'à voulu démontrer M. Stern. Il s'est proposé le problème suivant : étant données des poussières vivantes en suspension dans un appartement, savoir avec quelle vitesse elles tombent sur les meubles ou sur le sol, et quelle doit être la vitesse du courant d'air nécessaire pour les enlever et les reporter à l'extérieur.

On voit toute la difficulté de ce problème, et de l'expérience à faire pour l'étudier. Il faut d'abord avoir une pièce pourvue d'une ventilation dont on soit maître. Or est-on jamais maître d'une ventilation ? La chambre qui a servi avait un volume de 85 mètres cubes. Elle était pourvue de deux séries de trappes placées les unes en haut, les autres en bas sur deux faces opposées, et en outre de cheminées de ventilation dans lesquelles brûlaient des becs de gaz. Au besoin, on pouvait, à l'aide de ventilateurs, diriger un courant d'air de l'une des séries de trappes à l'autre, et lui faire traverser diagonalement la pièce, soit du plancher au plafond, soit en sens inverse.

Dans cette chambre on répandait, à l'aide d'un pulvérisateur ordinaire à iodoforme, un nuage de poussières empruntées à diverses sources, et tamisées ou lévigées au préalable de façon à leur donner le maximum de légèreté, et à les laisser le plus longtemps possible en suspension dans l'air.

M. Stern a pensé qu'au lieu de laisser dans ces poussières les germes

1. *Les organismes vivants de l'atmosphère.* Paris, 1883, p. 255.

variés et inconnus qu'elles renfermaient, il valait mieux les stériliser par la chaleur, et les imprégner d'une culture d'un microbe unique, dont on connaîtrait bien les formes et la biologie, de façon à pouvoir toujours lui offrir un milieu convenable de culture, et le distinguer sûrement des autres microbes que les erreurs expérimentales, inévitables dans un pareil sujet, pourraient lui associer. Ce microbe devait pouvoir supporter la dessiccation, ne pas être normalement présent dans l'air, n'être pas pathogène et être très facilement reconnaissable. M. Stern a trouvé toutes ces qualités réunies dans le *Bacillus Megaterium* de M. de Bary, que sa grosseur inusitée fait distinguer facilement au microscope de toutes les autres bactéries.

Malheureusement, le traitement nécessaire pour l'incorporer dans la poussière semble avoir enlevé à celle-ci un peu de sa légèreté spécifique. Après avoir été humectée de la culture, desséchée, puis broyée à nouveau, elle tombait, comme nous allons le voir, assez vite dans l'air, et les mêmes raisons font qu'elle se laissait difficilement entraîner par la ventilation. Il semble donc évident que malgré la peine qu'il a prise, M. Stern ne s'est pas beaucoup rapproché de la réalité, et que ses conclusions conservent un côté contingent qu'il ne faut pas oublier quand on veut les appliquer à la pratique. Sous cette réserve, elles méritent pourtant d'être connues, comme on va voir.

La méthode employée consistait à produire dans l'air un nuage de poussière, et à y puiser aussitôt une prise d'essai, en faisant passer 6 ou 12 litres d'air dans un filtre à sable de Pétri. On faisait de nouvelles prises à divers intervalles, et en répartissant ensuite le sable des filtres dans des gélatines nutritives, on faisait la numération des colonies obtenues. Il va sans dire qu'une fois produit le nuage de poussière, on n'entrait plus dans la chambre, et que toutes les opérations étaient commandées de l'extérieur.

Une expérience donnera une idée des autres. Dans un cas, avec de la poussière recueillie dans une école, on a vu le nombre de germes en suspension, qui était de 629 à l'origine, tomber à 73 après 11 minutes, à 63 après 35 minutes et à 0 après 4 heures et demie. On voit que la chute est presque complète au bout d'une demi-heure, et que seules les particules les plus fines restent en suspension. De la poussière prise dans une fabrique a mis plus longtemps à se déposer.

On voit là le caractère essentiellement contingent de ces essais. Que tirer de général de l'étude de ces poussières sur lesquelles on ne sait rien ? Quelles tombent vite ? mais rien n'est moins étonnant si elles sont grosses. Il semble *a priori* qu'il aurait beaucoup mieux valu prendre des poudres végétales ou minérales de dimension connue, par exemple du lycopode, de l'amidon, et examiner la relation de la vitesse de chute avec la grosseur. Ce qui confirme dans cette idée que c'était là la voie

féconde, c'est que M. Stern, après avoir produit dans l'air un nuage artificiel de spores d'*aspergillus*, a trouvé qu'innombrables à l'origine, elles étaient encore très nombreuses au bout de deux heures. Il est probable qu'en y regardant de plus près, il aurait trouvé que celles qui étaient en suspension au bout de ce temps étaient surtout des spores isolées, que celles qui étaient tombées les premières, étaient formées d'amas de spores qu'il est quelquefois fort difficile de décoller les unes des autres, et, à ces constatations, son mémoire, très soigneux du reste, aurait gagné un caractère général dont il est dépourvu.

Les essais relatifs à l'influence de la ventilation souffrent du même défaut. M. Stern a trouvé qu'avec une vitesse de ventilation capable de renouveler de 1 à 3 fois par heure l'air de la chambre, cet air ne se débarrassait pas plus vite de ses germes que s'il avait été laissé en repos. Il n'y a eu une avance un peu sensible (et encore !) qu'avec une ventilation modérée parcourant la pièce du haut en bas, qui pouvait par suite accélérer la chute des germes au lieu de les maintenir en suspension comme la ventilation inverse. Pour obtenir un effet marqué, avec les poussières étudiées par M. Stern, il faut avoir recours à une ventilation exagérée, qui renouvellerait de 6 à 7 fois par heure l'air de la chambre. Ce ne serait plus une ventilation, ce serait une usine à rhumes de cerveau. On est tout heureux, après cela, de trouver une expérience où, en ouvrant largement la porte donnant sur le palier de l'escalier, et en produisant le maximum de ventilation possible avec les trappes ouvertes et tous les ventilateurs, le chiffre des microbes en suspension, qui était de 620 à l'origine est tombé à 6 après deux minutes de ventilation. Voilà au moins l'ouverture des portes, et aussi des fenêtres, réhabilitée devant la statistique.

Je passe rapidement sur l'effet de la ventilation sur les germes déposés sur le parquet, les tapisseries, les meubles, les vêtements. Il est trop clair que si elle est impuissante à hâter la disparition des germes de l'air, elle le sera encore plus pour enlever ceux qui ont contracté des adhérences avec les corps solides. Mais n'est-il pas imprudent de conclure de cela, comme le fait M. Stern, que l'exposition au grand air des vêtements contaminés est chose illusoire. Voilà où on voit bien combien il faut se défendre des généralisations prématurées. Quelle est la vitesse moyenne d'un courant d'air qui renouvelle 10 fois par heure l'air d'une chambre comme celle de M. Stern ? Il lui suffit de parcourir en une heure 10 fois la longueur de la chambre, c'est-à-dire environ 60 mètres, cela fait 1 mètre par minute. La moindre brise va 100 fois plus vite. Comment conclure de l'un à l'autre ? L'exposition au grand air met d'ailleurs en jeu d'autres forces actives que la vitesse du vent. Evidemment, M. Stern n'a pas le droit d'étendre ainsi outre mesure la portée de son expérience.

J'en dirai autant de celle qu'il a faite sur l'influence de la vapeur d'eau. Dans le but de savoir si elle hâtait le dépôt des germes en suspension dans l'air, on a rempli de la vapeur fournie par un autoclave une chambre où on avait répandu un nuage de poussières, et on a cherché si la vitesse de chute des germes était augmentée. L'expérience n'a indiqué aucun changement sensible ; mais voilà encore un résultat qu'on ne saurait, je crois, généraliser sans imprudence. Si la vapeur introduite dans la chambre n'a pas amené de condensation ni de chute de gouttelettes, le résultat observé n'a rien de surprenant. L'atmosphère intérieure est restée sèche et s'est comportée comme de l'air ordinaire. Mais s'il y a eu condensation d'humidité, on ne s'expliquerait pas que les gouttelettes formées, en tombant, n'aient pas purifié l'atmosphère au travers de laquelle elles passaient. C'est au moins ce que fait la pluie, dans l'opinion commune, et aussi dans celle des savants. Il est vrai que dans la science comme dans la vie ordinaire, il est prudent de n'être jamais très sûr de son opinion.

Dx.

BRUNO KRÜGER. — Action physique des dépôts sur les microbes présents dans l'eau. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. VII, p. 86-114, 1889.

On sait depuis longtemps que les germes en suspension dans l'eau subissent, de la part des corps ou des parois solides à portée desquels ils passent, des attractions qui les immobilisent. C'est à cet ordre d'attractions à distance qu'il faut rapporter, comme je l'ai montré, le fonctionnement des filtres stérilisateurs. M. Certes (*Analyse micrographique des eaux*, 1883) fait une récolte de bactéries en suspension dans un liquide, en y laissant tomber simplement des lamelles couvre-objets, soigneusement lavées à l'acide et à l'alcool, et stérilisées par le flambage. Dans une thèse inaugurale récente [1], M. Brödtler a employé le même procédé, et a montré que ces lamelles se couvraient d'autant plus de germes, qu'elles étaient restées plus longtemps en contact avec l'eau. Pour multiplier encore les surfaces de contact, M. Percy Frankland [2] a agité une eau riche en bactéries avec des matières pulvérulentes, et a constaté, après un certain temps de contact, que la richesse bactérienne de l'eau avait diminué. Les conclusions qu'il en a tirées au sujet de l'action des filtres ne sont pas aussi nouvelles qu'il le suppose, mais cela est sans importance. Ce qu'on peut reprocher de plus sérieux

1. Sur la Biologie des germes vivants dans l'eau. Berlin, 1888.
2. Nouvel aspect de la filtration et des autres méthodes de traitement de l'eau.

à ses expériences, c'est que la proportion de la matière pulvérulente à l'eau était exagérée; ce qui enlève un peu de leur valeur pratique à ses résultats.

M. Krüger s'est proposé de reprendre ce sujet. Il a disposé pour cela, dans les caves de l'Institut hygiénique d'Iéna, de grands vases cylindriques bien lavés, et remplis d'eau qu'on ensemençait au moyen d'une culture, dans l'eau, d'un microbe de cette même eau, qui y existait déjà avant l'ensemencement, mais que cet ensemencement rendait prédominant. L'avantage de cette pratique est qu'on opérait à peu près exclusivement sur un microbe connu, et qu'on n'avait pas besoin de stériliser les masses considérables d'eau sur lesquelles portait l'expérience. L'inconvénient est que ce microbe, étant un microbe de l'eau (et même un de ces microbes qu'on commence à appeler en Allemagne, microbes *modestes* (*anspruchlos*), par opposition aux microbes aquatiques *exigeants* (*anspruchsvoll*), comme le microbe du choléra), il pouvait s'y multiplier pendant l'expérience, et en compliquer ainsi fâcheusement les résultats. Il semble que tout bien pesé, ce soit l'inconvénient qui l'emporte, et que les conclusions de M. Krüger eussent été plus nettes s'il avait introduit dans son eau une espèce unique, capable d'y vivre sans y pulluler.

Quoi qu'il en soit, voici comment se faisait l'expérience : après avoir prélevé une prise d'essai dans l'eau ensemencée vingt-quatre heures auparavant par sa bactérie, on y ajoutait la substance pulvérulente, on agitait de façon à la répartir également dans la masse, et à divers intervalles on prélevait, au moyen de pipettes flambées, de nouvelles prises d'essai au haut, au milieu et au bas du vase cylindrique. Ces prises d'essai servaient à faire des plaques de gélatine nutritive qui permettaient la numération des microbes contenus.

Sans entrer dans le détail des expériences, voici le résumé des résultats. Considérons d'abord celles qui sont faites avec des matériaux insolubles dans l'eau et n'en changeant ni la réaction au papier de tournesol, ni le degré de dureté. M. Krüger a étudié huit poudres très différentes par leurs propriétés physiques. Deux de ces poudres, très denses, et se déposant très vite dans l'eau, le sable et la poudre de coke, se sont montrées moins actives que des poudres plus légères. L'introduction de 2^{gr} de poudre de coke par litre d'eau n'a donné au bout de 6 heures qu'une diminution de moitié dans la richesse en bactéries des couches moyennes et supérieures, et il n'y avait rien à attendre d'une durée plus longue de contact, attendu que toute la poudre était déjà déposée après ce temps. Au contraire l'introduction de $0^{gr},5$ par litre de silice spongieuse avait réduit à 1/14, au bout de 20 heures, le chiffre des bactéries. On trouve des résultats analogues avec le carbonate de chaux, la brique pilée, l'argile, l'alumine, le

charbon de bois. Ces substances agissent d'autant plus énergiquement mais aussi, naturellement, d'autant plus lentement qu'elles restent plus longtemps en suspension dans l'eau. Il faut leur laisser le temps d'entraîner les microbes vers le fond du vase, où on les trouve toujours plus abondants qu'en haut. Si on n'ajoute pas à l'eau de substance pulvérulente, si on l'abandonne simplement à elle-même, on n'observe pour ainsi dire pas de différence dans les couches inférieures et les couches supérieures. Mais il doit intervenir une question de temps, car dans les expériences faites sur ce sujet par MM. Pasteur et Joubert, on arrivait à recueillir au fond de l'eau tous les germes en suspension dans le liquide.

Je laisse de côté l'influence de la multiplication des bactéries, influence que M. Krüger démêle péniblement de ses expériences, pour arriver à l'étude des substances pulvérulentes qui changent, en se dissolvant dans l'eau, sa composition et ses propriétés. M. Krüger a étudié l'action de la magnésie, des cendres de bois dur, de la chaux et d'un mélange de chaux et de sulfate d'alumine brut. Il trouve, comme on pouvait s'y attendre, que l'élimination des bactéries devient plus rapide, soit parce qu'elles sont entraînées par le dépôt, soit parce qu'elles sont tuées par les conditions défavorables du mélange obtenu. Il y aurait à faire la part des diverses influences qui interviennent; mais M. Krüger n'a pas encore abordé ce sujet.

Dx

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE [1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — OCTOBRE 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure — simples	»	»	2	»	3	4	»	»	»
Morsures à la tête et à la figure — multiples	»	2		»	1		»	»	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	1	»	»	1	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	3	»	»	»	»	»
Morsures aux mains — simples	»	8	12	»	26	47	»	4	8
Morsures aux mains — multiples	»	4		»	21		»	4	
Cautérisations efficaces	1	»	»	1	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	3	»	»	13	»	»	5	»	»
Pas de cautérisation	8	»	»	33	»	»	3	»	»
Morsures aux membres et au tronc — simples	»	2	5	»	10	30	»	2	5
Morsures aux membres et au tronc — multiples	»	3		»	20		»	3	
Cautérisations efficaces	»	»	»	4	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	2	»	»	12	»	»	5	»	»
Pas de cautérisation	3	»	»	14	»	»	»	»	»
Habits déchirés	4	»	»	26	»	»	5	»	»
Morsures à nu	1	»	»	4	»	»	»	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	»	»	»	7	7	»	3	3
Cautérisations efficaces	»	»	»	2	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	1	»	»	2	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	4	»	»	1	»	»
Habits déchirés	»	»	»	6	»	»	3	»	»
Morsures à nu	»	»	»	7	»	»	3	»	»
Totaux. — Français et Algériens	..	16	19	..	64	88	..	15	16
Totaux. — Etrangers	..	3		..	24		..	1	
		A			B			C	
TOTAL GÉNÉRAL					**123**				

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 116 fois : chats, 5 fois ; chacal, 1 fois ; enfant, 1 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

3me ANNÉE. DÉCEMBRE 1889. N° 12

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

VIBRIO METCHNIKOVI
LOCALISATION INTESTINALE,

Par M. N. GAMALÉIA.

Nous avons déjà montré[1] que la virulence exaltée du *vibrio Metchnikovi* est due à la toxine qui l'accompagne. Cette toxine spécifique, formée dans l'organisme contaminé ou retirée d'une culture stérilisée, et ajoutée au microbe infectant (*infection toxique*), produit une *généralisation* de ce microbe chez les lapins. Cette généralisation se traduit par trois ordres de phénomènes :

a. — La réaction locale au point d'inoculation, qui, avec le virus peu virulent (ou sans toxine), consiste en une immigration plus ou moins abondante de leucocytes polynucléaires, disparaît en faisant place à un œdème gélatineux plus ou moins sanguinolent, avec beaucoup de vibrions et sans cellules blanches :

b. — La réaction fébrile qui se traduit par l'élévation de la température, l'hypérémie de la rate et l'absence de vibrions dans le sang, est remplacée par l'intoxication septicémique : abaissement progressif de la température, absence de gonflement splénique, envahissement du sang par les vibrions ;

c. — La lésion spécifique dans l'intestin se modifie aussi : tandis que les vibrions peu virulents ne produisent qu'une très

1. Ces *Annales*, n° 11 ; voir aussi la note à la fin de cet article.

faible hypérémie de l'intestin, ou bien y provoquent un épanchement liquide, contenant beaucoup de leucocytes émigrés, l'infection toxique donne lieu à une hypérémie très prononcée de l'intestin grêle, avec un liquide abondant qui contient des flocons d'épithélium et des vibrions.

Ajoutons que les mêmes phénomènes se retrouvent aussi chez d'autres animaux, en raison de leur sensibilité au virus, et que les phénomènes inverses se produisent chez les animaux vaccinés : la réaction locale réapparaît avec l'immigration cellulaire, la rate s'hypérémie, et la température monte ; dans la diarrhée intestinale on retrouve les leucocytes [1].

Par conséquent, c'est à la présence de la toxine qu'il faut attribuer la disparition des réactions locale et fébrile, ainsi que l'apparition des vibrions dans le tube digestif.

Or, nous nous proposons d'étudier le mécanisme de cette action généralisatrice de la toxine, celui par lequel la toxine supprime la résistance des animaux et porte les vibrions dans l'intestin.

Nous commencerons par ce dernier symptôme, par la localisation intestinale.

II

En abordant l'étude de la gastro-entérite des poules, nous avions recherché si cette maladie naturelle, si semblable au choléra humain, nous permettrait d'apporter de nouvelles preuves en faveur de la pathogénie du choléra, établie par M. R. Koch. Sa doctrine admise presque universellement veut que le vibrion indien pénètre par la voie stomacale dans l'intestin, où se trouvent des conditions très favorables à son développement, et que la mort dans le choléra soit produite par l'absorption des substances toxiques, formées si abondamment dans la masse énorme du contenu intestinal diarrhéique.

Il est vrai que l'expérimentation donne des résultats défavorables à cette doctrine, puisque, comme M. R. Koch l'a montré le premier, les bacilles-virgules traversent le tube digestif normal

1. Voir les expériences, qui sont résumées ici, dans les *Annales* n°s 9, 10, 1888, et 10, 11 de cette année.

du cobaye, sans pouvoir s'y développer et donner la maladie [1].

Pour réussir à la reproduire, il est nécessaire de surajouter à l'infection une lésion quelconque du canal intestinal [2], et de se mettre ainsi dans des conditions où la spécificité des vibrions cholériques disparaît, puisque des bactéries banales provoquent dans ces mêmes conditions des accidents semblables [3].

Mais on expliquait ces difficultés expérimentales par le fait que le choléra est l'apanage exclusif de l'homme, sur lequel on ne pouvait expérimenter. Par conséquent, il devenait très intéressant d'étudier cette question de localisation intestinale sur une affection cholériforme propre aux animaux, comme celle que j'avais découverte.

Je me suis donc posé pour cette maladie des poules, les deux questions suivantes :

1° Où est le foyer morbide dans lequel se localisent les vibrions pour produire l'intoxication mortelle ?

2° Comment se fait cette localisation morbigène des vibrions ?

III

J'ai exposé antérieurement [4] les ressemblances du choléra humain avec la maladie des poules, causée par le *vibrio Metchnikovi :* les vibrions, microbes pathogènes, se trouvant seule-

1. Deuxième conférence sur le choléra. En introduisant les vibrions après la neutralisation du suc gastrique, M. Koch a constaté que les cobayes restaient bien portants, et en tuant ces animaux, il a trouvé des vibrions vivants dans leur intestin.

2. Ligature du cholédoque d'après MM. Nicati et Rietsch ; forte dose de teinture d'opium et carbonate de soude d'après M. Koch ; ingestion ou injection d'alcool d'après M. Doyen, etc.

3. C'est aussi M. Koch qui a montré que les vibrions de Finkler et Prior, de Denecke et de Miller, peuvent tuer les cobayes par sa méthode. MM. Finkler et Prior prouvèrent ensuite que les différences trouvées par M. Koch dans l'action de leur microbe et du sien, étaient insignifiantes (*Forschungen uber Cholerabacterien*, 1887). M. Bouchard (*Leçons sur les autointoxications*, 1887) a démontré aussi que les bactéries banales produisent, dans les conditions données par la méthode de Koch, les mêmes effets que les vibrions cholériques.

Du reste, M. Koch lui-même, en prouvant que les cobayes qui avaient survécu à une première infection, étaient tués par une infection postérieure, a bien montré que dans ses expériences les vibrions n'exerçaient aucune action spécifique, puisqu'il savait que les malades guéris du choléra acquéraient une immunité relative.

4 Ces *Annales*, n° 9, 1888.

ment dans le canal digestif, tandis que le sang et les organes intérieurs sont sans microbes, stériles et non infectieux. C'était évidemment, comme le choléra, une maladie exclusivement localisée dans l'intestin et produisant la mort par l'absorption d'une substance toxique. La seule différence entre les deux maladies était que, loin de constituer une culture pure de vibrions, comme les auteurs l'indiquent pour le choléra asiatique, l'intestin des poules contenait aussi des bactéries banales.

Mais, avec les poulets, on observe déjà la pénétration des vibrions dans l'intérieur de l'organisme.

Expérience I. — 25 juillet 1888. Un poulet, mort ce matin, est apporté du marché. La rate est petite. L'intestin est rempli d'un liquide puro-sanguinolent, le jabot est distendu par le liquide.

A l'examen microscopique, on trouve des vibrions dans le jabot, l'intestin et la rate. Partout ces vibrions sont mêlés à d'autres bactéries. On ne voit pas de microbes dans le sang du cœur. 2^{cc} d'une émulsion faite avec le contenu intestinal et 4^{cc} de celle du sang du cœur sont inoculés séparément dans les muscles de 2 pigeons. Le pigeon, inoculé avec la première, meurt dans la journée. On ne trouve pas de microbes dans son sang.

Le pigeon inoculé avec le sang succombe le lendemain. Beaucoup de vibrions dans son sang du cœur, qui a servi aux passages suivants.

Il y avait donc des vibrions dans le sang du poulet, mais en quantité minime, puisqu'ils n'ont été décelés que par la méthode expérimentale de l'inoculation.

Vu cette localisation intestinale des vibrions, il fallait évidemment rechercher s'ils trouvent vraiment un terrain favorable de culture dans le contenu intestinal. Nous avons réussi à infecter les jeunes poulets par l'ingestion des vibrions.

Expérience II. — 27 juillet. Le sang d'un pigeon de passage est donné à boire à un petit poulet, qui succombe le 30. L'intestin est rempli d'un liquide jaune contenant des flocons d'épithéliums et des vibrions. Ceux-ci se trouvent aussi dans le sang du cœur.

Mais les poulets plus grands, les poules et les pigeons ne sont nullement incommodés, et n'acquièrent même pas l'immunité par ce mode d'infection.

Comme le contenu du jabot a une réaction faiblement alcaline, il est clair que ce n'est pas l'acidité qui empêche les vibrions d'infecter les oiseaux adultes.

Du reste, même en renforçant la réaction alcaline du jabot, on n'obtient pas de meilleurs résultats chez les pigeons.

Expérience III. — Le 19 novembre, on injecte dans le jabot d'un pigeon 10cc d'eau bouillie et 1cc d'une culture vibrionienne virulente. Un autre pigeon est traité de même, sauf substitution à l'eau pure de 10cc d'une solution de bicarbonate de soude à 5 0/0.

Les deux pigeons restent parfaitement bien portants.

Expérience IV. — Le 20 novembre. Les mêmes pigeons reçoivent le premier 20cc d'eau bouillie, et le second 20cc de carbonate de soude à 5 0/0. Chacun est ensuite infecté dans le jabot par 4cc de la même culture qui avait été laissée à la température de 0° à 5°. Tous deux restent vivants.

Expérience V. — Le 21 novembre, à 10 heures du matin, la même culture, qui était restée parfaitement pure, est injectée dans les muscles d'un nouveau pigeon (4cc). Celui-ci meurt à 4 heures du soir.

Le 22, son sang, contenant des vibrions, est inoculé au second pigeon de l'expérience précédente (1cc), et le contenu du jabot est introduit par la fente respiratoire (1cc) dans la trachée du pigeon n° 1. Le n° 2 succombe le même jour avec des vibrions dans le sang; le n° 1 est trouvé mort le lendemain matin. Dans son sang on ne trouve pas de vibrions. Mais ils sont en culture pure dans les poumons, et se trouvent aussi dans le contenu intestinal. Un petit morceau du poumon est introduit sous la peau d'une petit oiseau (bec croisé), qui succombe quelques heures plus tard avec des vibrions dans le sang.

Ainsi, bien que les vibrions puissent apparaître, comme nous l'avons vu, dans le jabot des oiseaux morts de notre maladie, ils n'en sont pas moins incapables de produire une infection quelconque en arrivant par le jabot dans le tube digestif.

Dès lors, on se trouve conduit à expliquer l'infection des jeunes poulets par la pénétration des vibrions dans les parois de cet organe, plus tendres chez les jeunes oiseaux, et par l'envahissement ultérieur de l'économie et de l'intestin. Les oiseaux adultes, au contraire, chez qui le jabot sert à la macération des aliments, ont des parois qui s'opposent à toute pénétration des microbes.

De même, et pour les mêmes raisons, nous n'avons pas réussi à infecter les cobayes par le rectum.

Expérience VI. — Le 19 novembre, un cobaye reçoit un lavement de 15cc d'eau bouillie, avec 5cc de la même culture de vibrions que dans l'expérience III; un autre cobaye reçoit par la même voie 15cc de la solution de bicarbonate de soude à 5 0/0, avec 5cc de la même culture.

Les deux cobayes restent bien portants.

Expérience VII. — Le 20 novembre, les mêmes cobayes reçoivent en lavement, le premier 20^{cc} d'eau bouillie et 5^{cc} de la même culture, dilués dans 15^{cc} d'eau, le second 20^{cc} de carbonate de soude et 5^{cc} de la même culture dilués dans 15^{cc} d'eau.

Les cobayes restent bien portants. Ils ont succombé plus tard à une infection intramusculaire.

Les cobayes, au contraire, succombent, si l'on supprime le fonctionnement de l'estomac [1].

Expérience VIII. — Le 17 novembre, un cobaye reçoit par la sonde 10^{cc} d'une solution aqueuse de bicarbonate de soude à 5 0/0. Quelques minutes plus tard, on lui introduit par la même voie 1^{cc} d'une émulsion très dense d'une culture du vibrion sur la gélose.

Deux heures plus tard, il a déjà l'air malade et meurt pendant la nuit.

A l'autopsie, on lui trouve une rougeur extrêmement intense de l'estomac, qui est distendu par le liquide, et de tout l'intestin grêle. L'estomac a les parois épaissies par un œdème gélatineux. Poumons sains. Vibrions dans le sang.

Cette gastrite suraiguë prouve que l'estomac a servi ici, comme le jabot chez les jeunes poulets, de porte d'entrée aux vibrions peuplant toute l'économie, ce qui nous éloigne complètement des conditions de la maladie naturelle des poules, et aussi de la question que nous cherchons à résoudre, sur le développement des vibrions dans le contenu intestinal.

IV

Puisque le jabot des oiseaux adultes ne peut pas servir de porte d'entrée au *vibrio Metchnikovi* frais, il faut admettre ou bien que le vibrion franchit la barrière gastrique à l'état de spore, ou bien qu'il s'introduit dans l'intestin par la voie sanguine, comme nous l'avons vu pour les jeunes poulets. Recherchons d'abord ce que produisent les vibrions portés dans l'intestin.

Expérience IX. — En même temps que le cobaye de l'expérience VIII, un autre cobaye est inoculé dans une anse intestinale par 1/2^{cc} de la même culture. Il meurt le lendemain matin (7 heures). A l'autopsie on lui trouve tout l'intestin grêle enflammé, mais aussi une rougeur intense de tout le péritoine. Elle est surtout pariétale (péritonite spécifique suraiguë).

1. Dans l'état normal de leur estomac, ils ne s'infectent pas, si on évite la régurgitation du liquide virulent dans les bronches. Voir les *Annales*, n° 10, 1888.

Expérience X. — Le 18 novembre, à 10 heures du matin, un cobaye reçoit dans une anse intestinale 1cc de la culture du vibrion dans le bouillon. Un autre cobaye du même poids reçoit la même quantité de la même culture dans les muscles de la cuisse droite.

Celui-ci meurt à 5 heures du soir avec les phénomènes habituels de l'infection vibrionienne.

L'autre cobaye ne succombe que le 19 à 1 heure du soir. A l'autopsie on lui trouve : œdème gélatineux sous la peau de la plaie du ventre, péritoine normal, intestin hypérémié.

Expérience XI. — Le même jour, un lapin est inoculé dans une anse intestinale avec 10cc de la même culture. Il succombe le 20. Intestin hypérémié et diarrhéique, surtout à l'endroit inoculé, où le mésentère contient plusieurs petites glandes lymphatiques hypertrophiées. A l'examen microscopique, on ne trouve de vibrions ni dans le contenu intestinal, ni dans les glandes précitées.

Expérience XII. — Le 12 janvier, on introduit dans l'anse intestinale d'un lapin 1cc du sang d'un pigeon de passage. Ce lapin succombe le 13. Intestin hypérémié et diarrhéique, mais dans son contenu on ne trouve pas de vibrions.

Nous concluons de ces expériences que le milieu intestinal des cobayes et des lapins n'est pas favorable à la culture du *vibrio Metchnikovi*, puisque celui-ci ne s'y retrouve pas même dans les cas d'infection intestinale réussie. Mais ces expériences ne sont pas décisives pour l'objet que nous avons en vue, car c'est chez les poules, et non chez les rongeurs, qu'on trouve la maladie naturelle causée par notre vibrion, et on pourrait dire que ce vibrion, quoique très pathogène pour diverses espèces animales, n'a la faculté de pulluler que dans le canal digestif des gallinacés, tout comme le vibrion de Koch dans l'intestin de l'homme.

Expérience XIII. — Le 22 novembre, une poule est inoculée dans l'intestin (au-dessous de l'anse qui entoure la glande pancréatique), par 4cc d'une culture virulente du vibrion, diluée dans trois fois son volume d'eau stérile. Cette poule reste bien portante.

Expérience XIV. — Le 26 novembre, cette même poule est inoculée par 4cc d'une culture virulente du vibrion dans les poumons après trachéotomie.

Une poule neuve est inoculée par la même dose (4cc) de la même culture dans une anse intestinale.

Toutes les deux sont mortes pendant la nuit.

La première avait des vibrions dans les poumons et l'intestin ; la seconde a succombé à une péritonite spécifique, car les vibrions étaient très nombreux dans l'enduit fibrineux qui couvrait les anses intestinales, et très rares dans le contenu intestinal, rempli d'autres microbes. (L'intestin des poules a

des parois très épaisses et peu rétractiles ; le trou, laissé par l'aiguille, a laissé échapper une partie du liquide inoculé.)

Expérience XV. — En même temps que les poules précédentes, une autre poule est inoculée avec 4cc de la même culture dans une anse intestinale.

Cette poule a survécu et n'a présenté aucun symptôme de la maladie. Inoculée le 7 décembre, dans la trachée, avec 4cc de sang de pigeon de passage, elle a succombé la même nuit à l'infection vibrionienne.

Ainsi, par l'introduction du vibrion dans le tube digestif, on ne réussit pas à reproduire l'affection cholérique que nous cherchons à obtenir, c'est-à-dire l'invasion de l'intestin seul par les vibrions. Cette introduction, ou ne donne aucune maladie (Exp. III, IV, VI, VII, XIII et XV), ou provoque la mort, mais sans envahissement du contenu intestinal par les vibrions (Exp. XI et XII), ou, enfin, laisse pulluler les vibrions dans l'intestin, mais avec pénétration des vibrions dans les tissus vivants (Exp. II, VIII, IX, X et XIV). Par conséquent, porté dans l'intestin, notre vibrion, pathogène pour les animaux, s'y développe chez eux tout aussi peu que le vibrion du choléra, non pathogène, et la ressemblance entre ces deux espèces microbiennes, sur laquelle nous avons tant insisté, se maintient aussi sur ce point particulier de pathogénie.

V

L'ensemble des expériences précédentes donne un résultat concordant chez les différents animaux, et complètement négatif quant au développement du vibrion dans le milieu intestinal : l'introduction des vibrions dans les voies digestives, ou ne produit aucun malaise, ou bien conduit à la mort, mais alors on trouve toujours quelque part (dans le gosier des petits poulets ou dans l'estomac alcalinisé des cobayes, ou dans le péritoine), la porte d'entrée des vibrions dans le tissu vivant. Nous concluons que la mort par le vibrion est produite par l'envahissement des tissus vivants, que le contenu intestinal n'est pas un terrain favorable au développement du vibrion, et que, par conséquent, la pathogénie admise pour le choléra n'est pas applicable à notre maladie des poules.

Cependant cette conclusion n'est pas encore absolument inattaquable, puisqu'on pourrait imaginer certaines altérations

de la digestion des poules [1], qui rendraient leur intestin apte à loger les vibrions.

Heureusement il existe un autre moyen pour trancher définitivement la question. Peuvent-ils, ces vibrions, produire la mort en se développant abondamment dans l'intestin?

Comme la mort dans notre maladie est due à une intoxication, qu'on peut reproduire avec une toxine que nous avons préparée [2], la question ci-dessus revient à chercher si la toxine du vibrion peut tuer, étant portée à l'intérieur du tube digestif.

Cette question est facile à résoudre.

Expérience XVI. — Le 4 novembre, un cobaye reçoit par la sonde dans l'estomac, 20cc de vaccin stérilisé, préparé par culture sur la gélatine, et qui tuait les cobayes, inoculés dans les muscles, à la dose de 4cc. Il reste bien portant.

Expérience XVI *bis*. — Le 5 décembre on soumet à l'inanition 2 cobayes de même poids. Le 8 décembre l'un d'eux succombe, avec l'estomac et l'intestin grêle parfaitement vides. Alors on introduit dans l'estomac de l'autre 15cc du vaccin très toxique de l'expérience XX. Le cobaye reçoit plus tard à manger, et reste bien portant.

Expérience XVII. — Le 7 novembre, à 8 heures du soir, un cobaye reçoit par la même voie 10cc du même vaccin que dans l'expérience XVI, après neutralisation du suc gastrique par 4cc de bicarbonate de soude à 5 0/0. A un autre cobaye on injecte 4cc du même vaccin dans les muscles. Celui-ci meurt pendant la nuit. Le premier reste vivant.

Expérience XVIII. — Le 8 novembre, on introduit 40cc du même vaccin dans le rectum d'un cobaye. Il reste vivant.

On pourrait encore dire que le suc gastrique, n'étant pas tout à fait éliminé dans nos expériences XVI et XVII, a pu s'opposer à l'action de la substance toxique ; et que dans l'expérience XVIII, c'était l'acidité du gros intestin qui neutralisait cette action. Ces objections sont écartées par l'expérience suivante :

Expérience XIX. — Le 23 novembre, à 10 heures du soir, un cobaye de 275 grammes reçoit 10cc du même vaccin, légèrement acidulé par l'acide chlorhydrique, dans une anse de l'intestin grêle [3].

1. Comme, par exemple, ces dyspepsies qui sont nécessaires, paraît-il (v. Encyclopédie de *Ziemssen*, 3e édition, art. *Choléra* par Rosbach), pour rendre cholérique, et qui n'étaient pas soupçonnées avant la découverte de M. Koch (v. Encyclopédie de *Ziemssen*, 2e édition, art. *Choléra* par Lebert).

2. Voir ces *Annales*, no 10, 1889.

3. On évite, dans ces opérations, l'usage d'acide phénique, très toxique dans le péritoine des cobayes.

Un autre cobaye de 290 grammes reçoit en même temps, en injection intrapéritonéale, 10^{cc} du même vaccin acidulé.

Celui-ci meurt vers 6 heures du matin. Le premier au contraire n'a pas été malade.

Nous croyons que ces expériences sont déjà suffisantes pour écarter la théorie pathogénique que nous discutons. Car, si l'intestin n'absorbe pas la toxine à l'état normal, il pourrait encore moins le faire dans son état catarrhal, puisqu'alors l'absorption est nulle[1].

Pourtant, on pourrait faire encore une objection.

Il serait possible que l'absorption de la toxine ait lieu par la paroi intestinale, mais que dans les conditions normales, cette toxine soit arrêtée par le foie qui perdrait son action protectrice dans les conditions morbides[2].

Cette interprétation serait en contradiction avec notre expérience XVIII, sur l'innocuité de la toxine introduite par le rectum, mais elle méritait d'être examinée au moyen d'expériences spéciales.

Expérience XX. — Le 22 novembre, une toxine préparée par la culture du vibrion dans le hachis de viande[3], stérilisée par filtration et très active, est injectée, d'après la méthode de M. Bouchard[4], dans la veine de l'oreille d'un lapin de 1,910 grammes. L'animal meurt après l'injection de 43^{cc}, après avoir présenté des convulsions, du mydriasis et de l'exophthalmie.

Un autre lapin, pesant 1,480 grammes, reçoit le même vaccin par une veine du mésentère. Il succombe avec les mêmes phénomènes, après avoir reçu 43 centimètres cubes.

La dose mortelle pour le premier était de 22^{cc} par kilo, pour le second de 24^{cc} ; c'est à peu près le même chiffre.

Ainsi, tout en réservant notre opinion sur une action possible du foie, action qui ne pourrait être éclaircie que par des recherches spéciales, nous concluons que cette action n'est pas assez prononcée pour expliquer l'innocuité complète de la toxine, introduite par les voies digestives.

1. Ainsi, pour le choléra, tout en admettant la non absorption par l'intestin malade, on fait l'hypothèse (v. Rosbach, *l. c.*) de l'absorption de la toxine dans les endroits qui sont encore restés sains. Ceci conduit à juger chaque cas d'autant plus dangereux que l'intestin est moins atteint.

2. On connaît depuis Schiff, cette action du foie sur les poisons non microbiens. Voir l'important travail de M. Roger : *L'Action du foie sur les poisons*, 1887.

3. Voir ces *Annales*, n° 10, 1889.

4. Leçons sur les autointoxications, 1887.

Tous ces résultats nous donnent le droit de conclure que la pathogénie cholérique ne s'applique pas à la maladie causée par le *vibrio Metchnikovi* ; ce n'est pas par l'invasion du contenu intestinal que ce vibrion pourrait agir.

VI

Dans un autre travail, tout étiologique[1], nous avons trouvé qu'entre les divers modes naturels d'infection par le *vibrio Metchnikovi*, le plus probable, parce que c'est le plus actif et même le seul actif chez les poules adultes, est l'introduction intrapulmonaire du virus. Nous avons trouvé qu'à la suite de cette infection intrapulmonaire, comme aussi du reste avec d'autres modes d'infection, les vibrions apparaissent dans l'intestin des animaux succombés[2].

Pour notre étude pathogénétique actuelle, il nous faut reprendre cette question de l'activité différente du virus, suivant sa porte d'entrée.

Il est incontestable que la voie intrapulmonaire d'infection est la plus dangereuse avec le *vibrio Metchnikovi*.

Comment expliquer cette activité des vibrions déposés dans le parenchyme pulmonaire ?

Au premier abord, on pourrait croire que l'infection intrapulmonaire est dangereuse pour des raisons exclusivement mécaniques. En inoculant dans les poumons, on déchire le tissu pulmonaire, et on crée ainsi, dans l'épanchement sanguin qui se forme, un milieu inerte et favorable à la culture microbienne.

Cette interprétation est inacceptable pour plusieurs raisons :

1° D'abord, l'inoculation sous-cutanée ou intramusculaire de plusieurs centimètres cubes du liquide produit aussi un épanchement sanguin, mais l'activité de cette inoculation n'est pas à comparer à celle de l'infection pulmonaire.

2° Ensuite, si l'action plus énergique du vibrion dépendait de la lésion pulmonaire, produite par l'inoculation, on devrait s'attendre à voir l'efficacité de l'infection augmenter avec l'étendue de cette lésion.

1. Ces *Annales*, n° 10, 1888.

2. Cette invasion de l'intestin se retrouve chez toutes les espèces animales : pigeons, poulets, poules, canards, cobayes, spermophiles, lapins, chiens et moutons.

Or, nous avons employé parallèlement les deux modes d'infection suivants : introduction du vibrion à travers la paroi thoracique au moyen d'une aiguille pénétrant dans le parenchyme pulmonaire, et d'un autre côté, introduction par la voie trachéale (au moyen de la trachéotomie, ou souvent, chez les oiseaux, à travers la fente laryngée). D'après la supposition précédente, le premier de ces deux modes d'infection devrait être plus efficace, puisqu'il entraîne une lésion pulmonaire plus grave. C'est le second qui est plus dangereux en réalité.

On le voit déjà par la rapidité plus grande de la mort qu'il entraîne.

Expérience XXI. — Le 27 novembre, à 10 heures du matin, on inocule, par 2^{cc} du sang de pigeon de passage, deux lapins : l'un par la trachée, l'autre à travers la plèvre droite. A midi le premier succombe. Pas d'épanchement pleurétique. Quelques îlots hypérémiés dans le poumon droit. Pas de vibrions dans le sang du cœur; beaucoup dans le contenu de l'intestin, qui est hypérémié. Rate petite.

L'autre meurt à 2 heures du soir. Grand épanchement pleurétique avec nombreux vibrions. Intestin hypérémié, etc., comme chez le premier.

On le voit aussi dans la diminution des doses nécessaires à l'infection mortelle.

Ainsi, pour tuer les moutons par l'inoculation pleurale, nous devions employer 15 à 20^{cc} de l'épanchement pleurétique du lapin de passage, tandis que, par la trachée, la dose mortelle était de 4 à 8^{cc}.

3° Une autre raison encore, pour croire à une activité spécifique de l'infection pulmonaire, est donnée par le fait suivant. Une infection mixte de vibrions, c'est-à-dire l'inoculation de nos vibrions spécifiques mêlés à d'autres bactéries, conduit, par la trachée, au développement exclusif des vibrions, tandis qu'elle ne réussit pas à infecter les animaux, si elle est faite par une autre voie.

Nous avons déjà donné quelques exemples de ce fait[1] ; voici d'autres expériences.

Expérience XXII. — Le 20 septembre, on inocule le contenu intestinal d'un lapin, tué par l'inoculation trachéale du vibrion, à travers le larynx d'un pigeon (1^{cc} de l'émulsion). Ce pigeon meurt la nuit suivante. Les

1. V. cet article expérience V, et ces *Annales*, 1888, n° 10.

vibrions se trouvent dans le poumon et l'intestin, et ne se trouvent pas dans le sang.

Expérience XXIII. — Le 24 septembre, on inocule dans le larynx d'un pigeon un peu du contenu intestinal d'un mouton tué par l'inoculation pleurale du *vibrio Metchnikovi*, et qui présentait au moment de l'autopsie l'invasion cadavérique du vibrion septique dans tous les organes.

Ce pigeon meurt la nuit suivante. Le *vibrio Metchnikovi* est absent du sang du cœur et présent dans les poumons et l'intestin.

Expérience XXIV. — Le 25 septembre, on inocule le contenu intestinal d'un mouton, tué par l'infection pleurale, à un pigeon par la voie laryngée.

Ce pigeon meurt la nuit suivante. Il a de la sérosité dans la cavité thoracique. Les vibrions s'y trouvent ainsi que dans le sang du cœur.

Expérience XXV. — Le 11 octobre, on inocule le contenu intestinal d'un mouton, tué par l'inoculation trachéale, à travers la fente respiratoire d'un pigeon (1/2 cc). Il meurt dans la nuit. Dans le poumon et dans l'intestin, on trouve les vibrions, qui sont absents du sang du cœur.

Ces expériences sont intéressantes sous plusieurs rapports. Elles prouvent, d'abord, l'efficacité de l'infection laryngée, qui permet de déceler expérimentalement la présence du vibrion, même mêlé à d'autres bactéries ; elles confirment, ensuite, que le vibrion passe dans l'intestin des animaux (lapins, moutons) infectés par les poumons ; elles montrent enfin que le vibrion peut être absent du sang du cœur, tout en se trouvant dans le poumon et l'intestin.

4° Une autre raison, encore, qui plaide en faveur d'une activité spéciale de l'infection pulmonaire, est que dans les cas d'infection très virulente, faite par la voie intrapulmonaire, il arrive parfois de ne pas trouver de lésions dans la cavité thoracique.

Expérience XXVI. — Le 14 septembre succombe un lapin, inoculé la veille dans le poumon droit par 3/4 de c. c. de sang de pigeon de passage. A l'autopsie, on ne trouve aucune lésion dans la plèvre. Les poumons sont un peu hypérémiés. La rate est petite, l'intestin très hypérémié avec de l'épithélium exfolié, et nos vibrions mêlés à d'autres [1].

5° D'un autre côté il arrive aussi que bien qu'on trouve, à l'autopsie, des lésions dans la cavité thoracique, ces lésions ne peuvent pas former un milieu de culture favorable aux vibrions et contribuer ainsi à l'invasion, car les vibrions ne s'y trouvent pas.

1. Un cas pareil est relaté dans notre article du n° 10 de ces *Annales*, 1888.

Expérience XXVII. — Le 30 septembre, succombe un mouton qui avait été inoculé le 27 dans la trachée, par 8cc de l'épanchement pleurétique du lapin.

On lui trouve : une exsudation sérofibrineuse dans les plèvres, l'hypérémie des poumons avec quelques îlots d'hépatisation; l'intestin grêle dans la partie supérieure est rempli d'un liquide abondant, avec épithélium exfolié et une quantité énorme de vibrions; ceux-ci sont, au contraire, absents de l'exsudation pleurétique du poumon et du sang. Le contenu intestinal et le poumon hépatisé servent à l'inoculation laryngée de deux pigeons. Le pigeon inoculé avec le poumon reste vivant, tandis que l'autre meurt la nuit suivante par l'infection vibrionienne [1].

. . . .

Toutes ces raisons, que nous venons d'énumérer, nous conduisent à croire que la lésion locale n'est pour rien dans la virulence extrême de l'infection pulmonaire. Au contraire, cette lésion locale nous a paru s'opposer, surtout chez les animaux réfractaires, à l'issue mortelle de l'infection [2], tandis que son absence marchait de pair avec la généralisation plus rapide des vibrions.

VII

Si la supériorité de l'infection pulmonaire, sur les autres modes d'infection étudiés, n'est pas liée à l'existence de la lésion pulmonaire, comment s'explique-t-elle ?

L'infection pulmonaire diffère des autres procédés d'infection par ses rapports avec la circulation sanguine : elle introduit le virus dans le sang artériel, tandis que, avec tous les autres procédés, les vibrions pénètrent avant tout dans le sang veineux.

Mais ce n'est probablement pas une différence de qualité entre le sang artériel et le sang veineux qui intervient, car le sang est impropre à la culture des vibrions ; ils n'y pullulent pas dans les circonstances ordinaires (p. ex. chez les poules ayant succombé à l'infection naturelle [3]).

D'un autre côté, si nous songeons qu'aussitôt entrés par une porte quelconque, les vibrions se dirigent vers le canal intestinal, leur terrain de prédilection, nous serons conduits à chercher la

1. Voir plus loin d'autres exemples pareils.

2. L'histoire de la lésion locale dans la maladie vibrionienne fera l'objet d'un autre travail.

3. Du reste, nous avons montré que l'infection des lapins par la voie sanguine aboutit à l'affaiblissement du virus (voir notre article dans le numéro précédent de ces *Annales*).

raison de l'activité plus grande de l'infection pulmonaire dans ce fait qu'elle ouvre aux vibrions la porte la plus voisine de leur milieu favori, le tube digestif. Pourtant, entre le cœur gauche et l'intestin se trouvent encore des organes, le foie et le pancréas, qui pourraient jouer un rôle dans la localisation intestinale.

Ainsi, par exemple, on pourrait croire que le vibrion qui ne se cultive bien ni dans le sang, ni dans l'intérieur de l'intestin, trouve un milieu favorable de culture dans la bile, déversée dans le duodénum. Cette hypothèse expliquerait et l'activité relative de l'infection pulmonaire, et l'inactivité relative de l'infection intestinale, et la localisation prédominante du vibrion dans la partie supérieure de l'intestin grêle [1]. Nous avons fait des expériences spéciales pour contrôler cette hypothèse.

Expérience XXVIII. — Le 17 septembre, on fait les opérations suivantes sur 4 lapins :

Les n°s 1 et 2 ont le canal cholédoque lié.

On coupe en deux l'intestin grêle chez le n° 3 et on ferme les deux bouts par des sutures.

On sépare le duodénum de l'intestin grêle du n° 4, et on pose des sutures sur les deux bouts. Ensuite, on les inocule tous les quatre à midi, chacun par 1 centimètre cube du sang de pigeon de passage; les n°s 1, 2 et 3 sont infectés à travers la plèvre, et le 4e dans le duodénum lié.

A 7 heures du soir succombent les lapins 1 et 2. A l'autopsie, on leur trouve des épanchements dans le péritoine et dans la plèvre. Les vibrions se trouvent dans ces épanchements, ainsi que dans le sang du cœur et dans le *contenu intestinal*. Celui-ci, pris chez le 1 et 2 séparément, sert à l'inoculation laryngée des deux pigeons.

A 8 heures du soir succombe le n° 3. Epanchements pleurétique et péritonéal avec des vibrions. Les vibrions se trouvent aussi dans les deux bouts de l'intestin, *inférieur* et *supérieur*. Le contenu du bout inférieur sert à l'inoculation laryngée d'un pigeon.

Le n° 4 a succombé pendant la nuit. Il n'a pas d'épanchement péritonéal. Le duodénum est distendu par un liquide abondant. Lés vibrions ne se trouvent nulle part. Le contenu intestinal est inoculé à travers le larynx d'un pigeon. La bile est semée dans le bouillon comme on l'a fait aussi pour les 3 lapins précédents. Les pigeons des n°s 1, 2 et 4 sont morts le 18 septembre. Dans le sang des deux premiers se trouvent des vibrions nombreux. Le sang du 4e n'en contient pas et, semé dans du bouillon, l'a laissé stérile.

Le pigeon du n° 3 a succombé la nuit suivante. Les vibrions sont présents dans son sang. La bile des n°s 1, 2 et 3 a donné des cultures pures du vibrion, mais non celle du n° 4.

1. Elle expliquerait aussi, par analogie, l'efficacité de l'introduction des virgules cholériques dans le canal cholédoque, trouvée par MM. Nicati et Rietsch.

Ces expériences démontrent que ni le foie, ni la glande pancréatique, ne jouent aucun rôle dans la localisation intestinale du vibrion ; que cette localisation se fait sur tout le parcours du tube digestif, et non pas par transport des vibrions avec le contenu intestinal ; que les vibrions inoculés dans le duodénum sont moins aptes à la localisation intestinale que ceux qui sont portés dans le poumon.

Par conséquent, il n'existe pas d'intermédiaires entre le sang artériel, charriant les vibrions, et l'intestin, où ils s'arrêtent [1].

VIII

Nous venons de prouver que le mode d'infection vibrionienne le plus dangereux est celui qui offre aux vibrions le chemin le plus court pour arriver à l'intestin.

D'un autre côté, nous avons montré que le contenu intestinal ne peut pas servir à la culture mortelle des vibrions.

Nous arrivons ainsi, par voie d'exclusion, à la véritable localisation de la culture mortelle : entre les capillaires sanguins, d'où ils sortent, et le contenu intestinal, où ils aboutissent, les vibrions ne peuvent se cultiver que dans le tissu intestinal même.

La culture mortelle du vibrion se fait dans les parois intestinales.

Cette localisation explique toutes nos expériences précédentes. Elle explique surtout comment il peut arrriver que, chez l'animal qui a succombé à l'infection, on ne trouve les vibrions nulle part, ni dans le sang, ni dans l'endroit de l'inoculation, ni dans l'intérieur de l'intestin [2], car la culture se localise dans le tissu intestinal.

Voici un autre exemple de ce fait :

EXPÉRIENCE XXIX. — Le 14 septembre, deux chiens, 1 et 2, sont inoculés à travers la plèvre droite, avec 12 et 8cc de l'épanchement pleurétique d'un lapin de passage.

1. La même conclusion s'imposait, du reste, par suite de nos expériences sur les pigeons ayant succombé à l'inoculation du vibrion, et qui contiennent les vibrions dans les organes aussi éloignés que le gosier et l'intestin. (V. l'expérience V.)

2. Voir surtout nos expériences sur les lapins vaccinés (Ces *Annales*, 1889, nº 11. Voir aussi les expériences XI et XII de cet article.)

Leurs températures sont :

		4 h. m.	3 h. s.	7 h. s.	
Le 15	1	40°4	41°2	40°4	diarrhée et vomissement.
	2	39°5	39°8	39°1	
Le 16	1	40°2	38°0	36°5	la diarrhée est extrêmement abondante.
	2	39°5	39°2	39°4	

Le n° 1 meurt la nuit du 17 au 18. On lui trouve un épanchement pleurétique sans vibrions, qui ne se trouvent non plus ni dans le poumon, ni dans le sang, ni dans la bile, ni dans l'intérieur de l'intestin, dont l'épithélium est desquamé. Un pigeon, inoculé par l'exsudation pleurétique, n'est pas mort. Le sang et la bile, semés, n'ont pas donné de culture.

L'autre chien a succombé le 17 avec les mêmes phénomènes : l'intestin rempli d'une masse puriforme semi-liquide, contenant de l'épithélium sans vibrions, qui n'ont, du reste, été trouvés nulle part ailleurs.

Pourtant, les préparations faites avec le tissu intestinal lavé de ces chiens ont montré des vibrions par l'examen microscopique. Ces vibrions étaient surtout nombreux chez le premier.

On devrait se demander si la toxine spécifique du vibrion peut agir en venant du tissu intestinal. Mais cette question est résolue par l'expérience XX, qui montre que la toxine est presque aussi active en venant par la veine mésentérique qu'introduite par la veine de l'oreille.

Nous n'avons pas besoin d'insister encore sur la concordance de notre localisation de la culture mortelle dans le tissu même de l'intestin avec tous les faits connus sur notre maladie. Notons seulement que le jabot, qui devient acide dans cette maladie, contient tout de même des vibrions vivants, qui n'ont pu évidemment se développer dans son contenu.

Nous résumons comme il suit les faits jusqu'ici acquis :

Le tissu intestinal est le terrain de prédilection pour la culture des vibrions, il constitue l'unique foyer morbide dans la maladie naturelle des poules, car la culture intra-intestinale ne présente aucun danger d'intoxication.

IX

Comme notre maladie n'obéit pas à la théorie pathogénique adoptée pour le choléra, et comme nous ne l'avons étudiée que pour résoudre les questions pendantes pour la maladie humaine, nous devons nous poser le dilemne suivant : ou bien l'analogie

entre deux maladies fait défaut sur ce point particulier, ou bien la théorie pathogénique du choléra n'est pas conforme à la réalité.

Or, l'analogie entre les deux affections est très étroite : elle se retrouve dans la marche clinique de la maladie, dans ses particularités anatomiques, dans la forme des microbes pathogènes, dans leurs propriétés culturales et biologiques [1], dans leur mode d'action par une toxine, dans les propriétés chimiques et vaccinales de cette toxine [2], dans l'exaltabilité de la virulence du microbe [3].

D'un autre côté, la théorie pathogénique courante du choléra soulève des objections très sérieuses [4]. Tout cela nous a conduit à étudier en détail la localisation intestinale dans le choléra. Le résultat de cette étude, qui sera publié ailleurs, est que la pathogénie courante est inexacte.

Le choléra paraît produit, non par l'invasion du contenu intestinal, mais par l'envahissement des tissus vivants, et, notamment, des parois intestinales.

Cette distinction pathogénique n'a pas seulement une importance théorique. Pour la prophylaxie du choléra au moyen des inoculations préventives, ainsi que pour la thérapie rationnelle de cette maladie, il est indispensable de savoir exactement où se trouve l'agent contre lequel on doit lutter, si c'est dans la masse énorme et inerte des déjections diarrhéiques, ou bien uniquement dans les tissus vivants. Dans le premier cas, l'immunité, artificiellement produite contre l'infection, pourrait se trouver insuffisante pour prévenir l'intoxication, si la dose de toxique dépassait la dose de tolérance; dans le second cas, l'emploi des antiseptiques serait inefficace contre les microbes pullulant dans les tissus.

Revenant à notre maladie vibrionienne, nous voyons que nous n'avons résolu que la première des deux questions posées au commencement de cet article. Nous n'avons fait, notamment, que localiser le foyer morbide; nous n'avons pas

1. Voir ces *Annales*, 1888, nos 9 et 10.

2. Voir ces *Annales*, 1889, no 10, et Communication à la Société de biologie, 30 novembre 1889.

3. Voir ces *Annales*, 1889, no 11.

4. Voir Bouchard, *Leçons sur les intoxications*, 1887.

encore expliqué le mécanisme de cette localisation et le rôle joué dans cette occasion par la toxine spécifique. Mais ce rôle est trop important pour ne pas mériter une étude spéciale.

Note. — Dans un compte rendu [1] de mon travail sur la vaccination chimique pour le *vibrio Metchnikovi*, M. Buchner me fait les objections suivantes. Donnant une autre explication du rapport que j'ai trouvé entre la sensibilité à l'intoxication et l'aptitude à la vaccination, il dit : « La résistance plus grande des pigeons ne se manifeste que vis-à-vis du virus mort. Vis-à-vis du vibrion vivant, les pigeons sont, d'après les données antérieures de Gamaléïa, l'espèce la plus susceptible. Il ne faut donc pas s'étonner s'ils sont si difficiles à vacciner » ; et plus bas, en parlant des lapins, il explique de même que cet animal soit difficile à vacciner parce que « le vibrion contenu dans l'exsudat pleurétique et acclimaté sur le lapin est très virulent pour cette espèce, comme le vibrion ordinaire l'est vis-à-vis du pigeon. La difficulté de le vacciner doit donc être la même. »

Je ne peux accepter cette interprétation. Le cobaye n'est pas moins sensible que le pigeon vis-à-vis du virus vivant du pigeon. Il a toujours et sans exception succombé à la dose de 1/8 de centimètre cube. De même, l'épanchement pleurétique du lapin est très virulent non seulement pour le lapin, mais pour tous les animaux étudiés. Enfin, les poulets, moins sensibles que les cobayes à l'intoxication et à l'infection par le virus du pigeon ou du lapin, ne sont vaccinés que par des doses plus fortes du vaccin.

M. Buchner me reproche judicieusement ailleurs de n'avoir pas dit, dans le récit de mes expériences, le temps écoulé entre les injections du virus mort et l'inoculation du vibrion vivant. Voici un exemple qui répond à sa demande.

Le 7 septembre 1888, on injecte à 3 cobayes 2^{cc} de vaccin. On refait l'injection le 9, et on fait le contrôle de l'immunité le 11, deux jours après.

Les pigeons étaient vaccinés par 3 doses de 4^{cc}, avec intervalles de un jour entre deux inoculations.

Ajoutons que les chiffres ci-dessus pour la toxicité et le pouvoir vaccinal des cultures se rapportent aux cultures ensemencées avec le sang de pigeon de passage. Nous avons réussi depuis à atténuer le *vibrio Metchnikovi*, et cette variété atténuée donne des cultures dont la toxicité est environ trois fois moindre. Ceci est une nouvelle preuve en faveur de notre idée que la virulence du vibrion est en relation avec son action toxigène.

1. *Centralbl. f. Bact.*, t. VI, p. 680.

NOUVELLE CONTRIBUTION A LA PATHOLOGIE ET A L'HISTO-PATHOLOGIE DE LA RAGE HUMAINE,

PAR LE Dr CHARLES SCHAFFER.

(Travail de la clinique de psychiatrie de l'Université de Budapest.)

Je voudrais, dans ce travail, apporter une double contribution à l'étude de la rage : en premier lieu, grouper les symptômes de cette maladie d'après le mode de propagation du virus, pour arriver à une division plus rationnelle des phénomènes rabiques ; puis, ajouter à l'histo-pathologie de la rage les données qui résultent de mes propres recherches.

I.

Je peux passer sous silence la description du tableau clinique de la rage, qui est bien connu. Je ne ferai ressortir, dans la série des symptômes, que ce qui est nécessaire pour leur groupement.

Après l'incubation et la période de prodromes éclate la rage manifeste, pendant laquelle se succèdent les phénomènes suivants :

1° En premier lieu, apparaissent les symptômes de l'irritation inflammatoire de la moelle épinière et de la moelle allongée : la dyspnée inspiratoire, la dysphagie, la salivation, le spasme laryngé et l'aérophobie, si légère qu'elle soit. Les pupilles sont à ce moment plus larges qu'à l'ordinaire, réagissent vivement ; au moment où une irritation périphérique leur arrive par le nerf acoustique ou la surface de la peau, elles se dilatent, puis se contractent brusquement, et ce double mouvement se répète deux ou trois fois avant de cesser. J'ai observé ce phénomène dans plusieurs cas de rage ; il était surtout manifeste au moment

où l'irritation inflammatoire de la moelle épinière et de la moelle allongée était la plus marquée. En outre, les réflexes sensoriels et ceux de la peau sont très augmentés. Le pouls est fréquent, la respiration fréquente et irrégulière. Le malade a de l'hydrophobie, et se retourne sans repos dans son lit.

2° L'intelligence, jusque-là claire, se trouble ; le malade a des hallucinations pénibles et leur obéit. Quand il se croit saisi, par exemple, il prend une attitude défensive ou agressive ; il entend la voix de ses parents, converse avec eux, etc. C'est la phase délirante, et il n'est pas douteux qu'à ce moment ne prédomine une irritation de l'écorce du cerveau. Pendant la 1re et la 2e phase, l'irritabilité réflexe générale se trouve augmentée, ce qui se révèle surtout par l'activité des réflexes de la peau et des sens.

3° Après le délire, c'est-à-dire après le trouble de l'intelligence, surviennent les troubles de la motilité. Les malades ont la démarche embarrassée, trébuchent souvent ; leurs membres ne peuvent plus porter le poids du corps, et ils tombent. C'est le tableau de la paraplégie lombaire, et cette forme de paralysie traduit de la façon la plus claire son origine spinale. L'irritabilité, qui a augmenté jusqu'ici, diminue, mais ne commence à disparaître qu'au commencement de la 4e phase.

4° Enfin surviennent, accompagnés de salivation abondante et de fréquents vomissements, des phénomènes convulsifs pendant lesquels la conscience disparaît. Les malades laissent aller leurs urines sous eux, çà et là apparaît la respiration de Cheyne-Stokes, et au milieu de ces manifestations, qu'accompagne une augmentation des phénomènes convulsifs, et quelquefois du tétanos, la mort survient. Il est clair que les convulsions correspondent à des lésions corticales, quand elles se présentent sous la forme de crampes cloniques et générales.

Pour compléter cette esquisse, je dirai un mot des élévations de température dans la rage. Anciens et nouveaux auteurs s'accordent à dire que la rage est une maladie fébrile ; la fièvre n'y a pas de type bien accentué, mais elle n'en présente pas moins des exacerbations vespérales et des rémissions matinales, et la température s'élève jusqu'au moment de l'exacerbation qui précède la mort. J'ai toujours observé ces variations de température, ce qui leur donne une signification prognostique égale à l'irritabi-

lité mécanique des muscles. Les contractions idiomusculaires sont toujours plus sensibles au moment de la mort, et même aussi après la mort.

En jetant un coup d'œil sur ces symptômes, on voit qu'ils sont en partie d'origine spinale, en partie d'origine corticale. Il n'est pas douteux que les symptômes décrits sous la rubrique 1 proviennent de l'infiltration inflammatoire de la moelle épinière et de la moelle allongée : ce sont donc des symptômes spino-bulbaires. Les paraplégies sont aussi des phénomènes spinaux. Les délires et les convulsions sont d'origine corticale. La sériation de ces symptômes montre d'abord des phénomènes corticaux succédant aux phénomènes spinaux, qui sont toujours primaires, les délires aux phénomènes spino-bulbaires, les convulsions aux paraplégies. D'un autre côté, en envisageant la qualité des phénomènes, on voit aussi facilement que l'on peut, dans la période de rage déclarée, distinguer deux périodes d'après l'état de l'irritabilité réflexe générale. Dans la première, les réflexes sont excités, dans la seconde ils diminuent ou disparaissent ; et à chacune de ces périodes appartiennent deux des quatre manifestations principales signalées. A la première, les phénomènes spino-bulbaires et les délires, à la seconde les paraplégies et les convulsions. Les paraplégies sont évidemment la traduction de la mort de la moelle, pendant que les convulsions résultent d'excitations de la couche corticale du cerveau, dont l'irritabilité a pourtant diminué, ainsi qu'en témoignent la perte de la conscience et le collapsus. En outre, les convulsions sont des phénomènes d'acheminement vers la mort.

Ces considérations permettent de grouper les phénomènes de la façon suivante :

I. Période d'incubation ;

II. Période des prodromes ;

III. Période d'irritation nerveuse (réflexes augmentés) comprenant : *a.* manifestations spino-bulbaires ; *b.* délire (couche corticale) ;

IV. Période de terminaison ou de mort (réflexes diminués) comprenant : *a*, paraplégies (moelle) ; *b*, convulsions (couche corticale).

Cette classification n'est pas artificielle, elle s'appuie sur le mode de propagation du virus. Des expériences de Bardach,

Cantani, di Vestea et Zagari, il résulte que le virus progresse le long des nerfs. Je crois utile de préciser les faits par un exemple.

Je prends le cas d'une morsure au mollet, intéressant l'une des branches du nerf sciatique. Le virus remonte le long de ce nerf, dans une propagation centripète, et atteint la région sacro-lombaire de la moelle. Ce point est le premier gîte d'étape dans le système nerveux, et la première région irritée, d'où une myélite lombaire (difficultés de miction et de défécation). Plus tard, le virus progresse en montant le long de la moelle, avant d'infecter l'autre nerf sciatique, et atteint la moelle cervicale et le bulbe, qui s'irritent à leur tour (phénomènes spéciaux spino-bulbaires). Enfin le virus gagne le cerveau, l'irrite et amène ainsi le délire. Après un certain temps, la substance nerveuse meurt, ce qui amène une diminution de l'irritabilité réflexe. Il est naturel de penser que ce sont les parties du système nerveux atteintes les premières qui meurent les premières. Ici c'est la moelle lombaire, d'où la paraplégie lombaire. Il n'est pas difficile de reconnaître que les phénomènes terminaux, du côté de la couche corticale du cerveau, n'arrivent qu'à la fin, après les paraplégies.

Mon groupement des symptômes diffère des autres, en ce qu'il tient compte de la localisation des manifestations rabiques, et du mode de propagation du virus comme facteur important du procès. Niemeyer distingue l'incubation, les prodromes (ou période mélancolique), et la période d'hydrophobie. Ce dernier nom est un nom collectif : il résulte de ce qui vient d'être dit que cette période comprend mes deux groupes III et IV.

Brouardel distingue 3 périodes : *a*, mélancolie ou prodromes; *b*, excitation ou hydrophobie, et *c*, paralysie. A la période d'excitation, il rapporte l'ensemble des phénomènes d'irritation nerveuse et les délires, à la paralysie les convulsions et le collapsus général qui précède la mort. Il ne fait pas mention des paraplégies.

Voilà pour mes remarques au sujet du tableau clinique de la rage. Je passe maintenant à la pathologie histologique de cette maladie.

II

L'étude microscopique de six cas de mort par rage a confirmé les connaissances acquises sur ce sujet, mais m'a fourni de nom-

breux détails intéressants qui s'en écartent un peu. Ces derniers sont beaucoup plus faciles à mettre en accord avec le tableau clinique de la rage, et peuvent servir à beaucoup mieux interpréter les principaux symptômes rabiques qu'on ne pouvait le faire avec les connaissances actuelles.

L'autopsie ne m'a montré rien de plus, et j'y ai vu souvent moins que n'en disent les auteurs. L'hypérémie et l'hémorragie sont les changements les plus visibles à l'œil nu du système nerveux central. Mais la macroscopie ne se borne pas là, et j'ai très souvent observé des altérations intéressantes après durcissement par le liquide de Muller, alors qu'à l'autopsie je ne trouvais pas autre chose que l'hypérémie bien connue. Je mentionnerai brièvement des altérations visibles dans la moelle durcie, sous forme de foyers de ramollissement de la substance grise, pendant qu'on voyait dans les cordons blancs, comme dépendant principalement de la dégénérescence de l'enveloppe médullaire, des stries et des îlots que leur nuance jaune d'ocre distinguait nettement de la nuance brun clair de la substance blanche. Ces ramollissements et ces nécroses se montraient dans les cornes antérieures et postérieures et les déformaient souvent. Les stries de dégénération de la substance blanche se montraient de préférence dans les cordons postérieurs, ou disséminées d'une façon typique sur certains points. Ainsi, presque tous les cas m'ont montré une strie de dégénération à la limite des cordons de Goll et de Burdach, surtout dans la moelle dorsale (V. fig. 1, 2 et 3).

Ici, je dois dire que Gamaleïa a aussi décrit, dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, des changements macroscopiques dans la rage. « Dans les autopsies de rage paralytique, dans la majorité des cas de rage des loups, et souvent aussi dans la rage commune, on constate dans la moelle des lésions macroscopiques déterminées... Les lésions sont ordinairement dispersées en îlots. Elles consistent en un ramollissement des cordons latéraux et postérieurs... Nous devons conclure que la rage médullaire est caractérisée par la nécrose en foyers. »

C'est en poursuivant ces recherches macroscopiques que je remarquai que c'était tantôt la moelle cervicale qui présentait les changements les plus profonds, tantôt le segment lombaire de la moelle qui avait subi l'altération la plus intense sous forme d'hémorragies étendues, d'îlots de ramollissement et de dégéné-

ration. Plus tard, il apparut clairement que dans les cas de morsure des extrémités inférieures, c'était la moelle lombaire qui était plus atteinte ; c'était au contraire le segment cervical dans le cas de blessure des extrémités antérieures.

C'est un fait qu'éclairent les expériences de Bardach, de Vestea et Zagari, de Cantani. Ces savants ont vu que le virus rabique se propage le long des nerfs. Di Vestea et Zagari, après avoir injecté du virus dans le nerf médian d'un lapin, ont inoculé six jours après, à trois lapins. des fragments des portions cervicale. bulbaire et lombaire de la moelle de cet animal. Ils ont vu que c'était le premier de ces lapins qui devenait rabique avant les autres, puis le second, pendant que le troisième échappait à la rage. Cantani, après avoir inoculé le nerf sciatique et tué l'animal avant l'apparition de la rage, n'a trouvé virulentes que la queue de cheval et la partie inférieure de la moelle spinale; le segment cervical et le bulbe se sont montrés inoffensifs. Des expériences variées du même ordre ont établi complètement la théorie nerveuse, c'est-à-dire le cheminement du virus le long des nerfs. Cette théorie explique bien les faits signalés plus haut. Une morsure des extrémités supérieures permet au virus de remonter par les nerfs du bras (cubital, médian, radial ou un nerf cutané) et d'arriver d'abord dans la moelle cervicale, où il fait le plus long séjour et amène le maximum de destruction. Dans le cas du mollet, le virus arrive par le sciatique à la partie inférieure de la moelle, infecte le segment lombo-sacré, où il amène les changements les plus marqués.

Ces observations macroscopiques nous font prévoir des altérations microscopiques, et il n'y a, en fait, aucun des éléments de la moelle qui ne soit atteint par ce procès inflammatoire. Avant d'exposer les résultats de mes recherches histologiques, je dirai brièvement que tout ce qu'on a observé jusqu'ici sur ce point se borne à une injection marquée et à une infiltration importante. On n'a pas encore constaté de changements dans les éléments nerveux. C'est ici que mes résultats diffèrent notablement des résultats anciens. En dehors de l'injection et de l'infiltration, j'ai observé d'intéressants changements dans les éléments nerveux, cellules et fibres nerveuses, et des altérations étendues dans le parenchyme.

L'infiltration de la moelle se manifestait par une abondante

émigration de leucocytes. Dans la substance blanche, mais de préférence dans la substance grise, on rencontre de nombreux globules blancs, serrés les uns contre les autres, qui dans la corne antérieure forment des amas correspondant à la distribution des vaisseaux sanguins ou des cellules ganglionnaires de la corne antérieure.

Les vaisseaux sanguins présentent aussi une riche infiltration périadventitielle. Leur endothelium est gonflé çà et là, ce qui en rétrécit la section. La tunique adventitielle est quelquefois hyaline et épaissie. Dans l'intérieur du vaisseau, on trouve de la coagulation et des filaments de fibrine. Le vaisseau est bondé de sang, et il n'est pas étonnant de voir se produire des hémorragies. Il y en a de très variées. Il y en a de capillaires, appelées aussi périvasculaires, c'est-à-dire des effusions dans la gaine. J'ai rencontré cependant très souvent des hémorragies des plus forts vaisseaux de la moelle. En général, c'est le pédoncule postérieur qui en est le siège de prédilection; et elles proviennent alors soit de l'artère des racines postérieures, soit de l'artère des cornes postérieures. Mais j'ai trouvé tout aussi fréquentes les hémorragies de la corne antérieure, et elles proviennent alors de l'artère sulco-commissurale. Ces hémorragies amènent par places de notables lésions. Le parenchyme de la corne se nécrose autour d'elles, et il se forme des îlots d'une substance homogène, dans lesquels on ne voit encastrés qu'en petit nombre des globules rouges, des leucocytes, des gouttes de myéline et d'autres détritus de tissus. En ces points, on trouve des cellules granuleuses : on sait quel rôle elles jouent dans la résorption des produits de destruction des tissus. J'ai trouvé aussi plus tard l'hémorragie dans le canal central. Dans un cas, elle était si importante qu'elle avait pénétré dans les deux pédoncules postérieurs, et même dans les cornes antérieures.

Je dois signaler ceci, que l'injection et l'infiltration sont surtout marquées sur le segment de la moelle en liaison nerveuse avec le lieu de la morsure à la périphérie. A celle des membres supérieurs, c'était le segment cervical; à celle des membres inférieurs, c'était le segment lombaire qui était le plus injecté. A partir de ce point, c'est-à-dire, par exemple, de la moelle lombaire vers la région cervicale, l'infiltration allait graduellement en décroissant.

Les cellules des ganglions de la corne antérieure présentaient les formes de dégénérescence les plus intéressantes et les plus variées. On y trouvait une *atrophie pigmentaire*, souvent une *formation de vacuoles*. J'ai observé de nombreux et beaux exemples de dégénérescence granuleuse du protoplasma des cellules nerveuses : il y avait des granulations, qui se laissaient fortement colorer par le carmin et l'éosine. J'ai trouvé aussi de ces granulations dans le noyau de la cellule ganglionnaire, ce qui témoigne des changements pathologiques de ce noyau (V. fig. 9).

Dans le noyau de la cellule nerveuse, il n'y avait pas seulement des granules fortement colorables par le carmin et l'éosine; j'y ai aussi trouvé de nombreux exemplaires de granules colorables à l'hématoxyline. Ceux-ci se groupent en nombre autour du nucléole. Ce sont, sans aucun doute, des produits pathologiques, car on n'en trouve pas dans le noyau normal. On peut donner à cette forme de changement pathologique le nom de *dégénérescence granuleuse* du noyau (V. fig. 7, pl. VIII).

Une autre forme de dégénérescence se manifeste par l'existence dans le protoplasma, de préférence autour du noyau, de petites vésicules rondes ou de minimes vacuoles dont la confluence donne au plasma périnucléaire un aspect segmenté. J'ai trouvé çà et là de la sclérose.

Le protoplasma de quelques cellules de la corne antérieure présentait une modification particulière qu'on peut observer principalement et fréquemment dans les cellules nerveuses des lapins enragés. Le corps de la cellule est fait d'une infinité de petites granulations disposées comme si le protoplasma allait envoyer devant lui des prolongements à la façon des amibes, de sorte que la portion du tissu de la cellule compris entre ces prolongements semble manquer, et qu'on a la même impression que s'il y avait eu une *dissolution granuleuse du protoplasma* (V. fig. 8).

J'ai observé ensuite deux formes de dégénérescence cellulaire remarquables, et non encore décrites. Dans l'une, la cellule, toujours nettement contournée, avait pris un contenu tout à fait homogène avec un éclat hyalin, et manifestait une élection particulière de la part du carmin et de l'éosine. En ces points on trouvait quelquefois une ou deux vacuoles. Cette tache circonscrite dans la cellule dégénérée, donnant vis-à-vis des matières

tinctoriales la réaction hyaline, je la nomme *dégénération hyaline* des cellules nerveuses (V. fig. 4).

L'autre forme non décrite de dégénération se manifestait sous la forme suivante. Dans le protoplasma de beaucoup de cellules nerveuses, on voyait courir, parallèlement au contour de la cellule, des fibrilles se colorant tantôt bien, tantôt faiblement par le carmin ou l'éosine, tantôt plus épaisses, tantôt plus ténues, dont l'ensemble donnait au tissu de la cellule un aspect poreux ou fibrineux. Le noyau et le nucléole ont alors quelque chose de pathologique, se colorent faiblement; le nucléole est désagrégé en granulations. Les fibrilles signalées sont surtout très visibles dans les prolongements cellulaires, où elles se colorent aussi d'une façon plus marquée. Cette autre forme de dégénération peut être appelée *dégénérescence fibrineuse ou en boucles* du tissu de la cellule (V. fig. 6).

La forme définitive de cette dégénérescence est une transformation du corps de la cellule, du noyau et du nucléole, en une masse de granules dans laquelle on trouve des amas plus colorés et plus ou moins volumineux, pendant que les fibrilles des prolongements cellulaires apparaissent encore très nettement. Ce n'est donc pas en somme autre chose qu'un amas granuleux épousant la forme de la cellule nerveuse. Une partie du corps de la cellule peut présenter la dégénérescence fibrineuse décrite, pendant que l'autre présente une dégénérescence granuleuse.

D'ordinaire les capillaires, remplis de sang, s'appliquent exactement sur le contour de la cellule, et il arrive aussi quelquefois qu'ils crèvent et épanchent leur contenu dans le réseau gélatineux qui enveloppe la cellule, de sorte que celle-ci peut sembler entourée de globules sanguins.

De ce que des cellules très voisines, et appartenant à la corne antérieure, peuvent présenter les formes les plus diverses de dégénérescence que nous venons de décrire, on peut conclure avec vraisemblance que ces diverses formes sont en rapport avec la constitution chimique des cellules, car il n'est pas probable qu'elles soient les différents stades d'une seule et même affection pathologique, d'une seule et même dégénérescence. Je me rapporte du reste aux recherches de Flesch, Benda et Koneff qui ont rencontré dans la moelle normale des cellules nerveuses

se comportant inégalement vis-à-vis des réactifs colorants, ce qu'ils ont expliqué par des différences dans leurs fonctions physiologiques.

J'ai trouvé des concrétions amyloïdes dans un certain nombre de cas, dans la substance blanche, et surtout dans la substance grise, et on les trouve encore en plus grand nombre le long des vaisseaux et sur les points où l'émigration leucocytaire est la plus active.

Dans le canal central, j'ai fait l'observation intéressante d'une invasion de leucocytes telle qu'ils l'avaient partagé en deux parties, l'une centrale et l'autre dorsale (V. fig. 5). J'ai observé souvent cet état. J'ai pu constater dans un cas un double canal, provenant d'une anomalie de l'état embryonnaire.

La substance blanche de la moelle subit aussi des changements de la part du procès inflammatoire. On y observe fréquemment une hypertrophie marquée du cylindre-axe, la dégénérescence des gaînes, et des gouttes de myéline. A la suite de la dégénérescence de la moelle, on trouve des cylindres-axes dénudés.

Sur les coupes, de préférence dans les cordons postérieurs, on trouve des cylindres-axes très hypertrophiés, qui se colorent plus faiblement, sont granuleux, ont un contour plus pâle et plus indécis. Ils sont entourés d'une gaîne se colorant fortement par le carmin, se teignant par l'hématoxyline cuivreuse suivant la méthode de Weigert, quelquefois gonflée et renflée en forme de vessie (V. fig. 10). Cette modification était marquée dans les cordons postérieurs, et par places aussi dans les cordons antérieurs et latéraux qui macroscopiquement se caractérisaient par une teinte d'ocre plus claire dans le liquide de Muller. Les racines postérieures étaient souvent en rapport avec la moelle dégénérée ; de nombreux cylindres-axes étaient dénudés et contournés en spirale ; et je remarque surtout que, dans tous les cas où les racines postérieures montraient ces changements, il y avait simultanément dans les cordons postérieurs des altérations dégénératives analogues. Dans les cordons blancs, on trouvait aussi des hémorragies, où les globules rouges occupaient le réticule gélatineux et laissaient entre eux des fibres nerveuses.

Les nerfs périphériques, en rapport avec le lieu de la mor-

sure, montraient une infiltration marquée. Par exemple, dans un cas de morsure au mollet, le sciatique était fortement infiltré de leucocytes. On y trouvait aussi une dégénérescence de la gaine et une hypertrophie du cylindre-axe. Le sciatique de l'autre membre était aussi infiltré, ce qui est bien d'accord avec l'expérience. Dans un cas de morsure aux membres antérieurs, ce sciatique était normal et n'avait pas d'infiltration.

En ce qui regarde les changements de la moelle, je peux encore dire que la dégénération décrite et l'hypertrophie des cylindres-axes se présentaient de préférence dans la substance grise en forme de ceinture ou d'aréoles; en s'éloignant vers la périphérie, ces lésions diminuaient graduellement et finissaient par disparaître. La substance grise est en quelque sorte le foyer principal de ces altérations.

Les altérations du bulbe seront maintenant faciles à décrire brièvement. Nous trouvons aussi en ce point des infiltrations et des injections. L'infiltration apparaît surtout dans le sinus rhomboïdal, dans les noyaux de l'hypoglosse, dans la région sensible du nerf vague, dans les faisceaux respiratoires et le faisceau solitaire de Stilling, mais surtout dans les différentes racines du nerf acoustique. On trouve souvent aux mêmes points des hémorragies de diverses formes; j'y ai observé de beaux exemples d'hémorragie périvasculaire. Sur les points où l'hémorragie, l'infiltration et l'injection étaient les plus marquées, j'ai trouvé aussi diverses formes de dégénération cellulaire. En particulier dans la formation de Deiters, et sur le territoire du ganglion du nerf acoustique, où les vaisseaux étaient presque toujours injectés et où les capillaires courent le plus souvent à la surface des cellules nerveuses, on observait dans celles-ci de la vacuolisation, des dégénérescences fibreuse et granuleuse, et même çà et là de la sclérose.

Le pont et les ganglions basilaires étaient fortement injectés, mais moins infiltrés. Dans la couche corticale, toutes ces altérations étaient moins marquées. J'ai pourtant trouvé de nombreuses cellules pyramidales avec des vacuoles, se colorant moins bien, avec des contours noyés et de nombreuses fentes péricellulaires.

III

De tout ce qui précède on peut conclure à l'existence dans la moelle d'une myélite aiguë, affectant à la fois la substance grise et la substance blanche, mais surtout marquée dans la première. Ces changements histopathologiques sont d'autant plus intéressants qu'on peut les invoquer pour comprendre et expliquer la plupart des symptômes de la rage.

Dans la myélite ordinaire aiguë, l'irritabilité réflexe est notablement augmentée, mais d'une façon moins universelle que dans la rage. La cause en est très vraisemblablement que dans la myélite simple aiguë, l'inflammation est limitée à un certain segment de la moelle, dont toutes les autres parties sont saines. L'irradiation réflexe, qui a augmenté et s'est étendue à la suite de l'inflammation, ne produit d'effet que dans les parties enflammées, et reste partielle, tandis que dans la rage le procès myélitique s'étend à toute la moelle et au bulbe, et l'irradiation réflexe apparaît avec un champ beaucoup plus étendu. On comprend alors facilement que la plus petite excitation de la peau ou du nerf acoustique provoquent la dyspnée inspiratoire caractéristique, la dilatation des pupilles, l'augmentation de la sécrétion sudorale, le hoquet, la dysphagie, par irradiation de l'excitation sur les régions irritées des centres respiratoires, des fibres sympathiques de la moelle cervicale, du nerf phrénique et de l'hypoglosse.

Bien que ces phénomènes spinaux soient marqués et même puissants, je dois pourtant laisser en suspens la question de savoir s'ils traduisent une simple irritation inflammatoire, ou bien s'il faut les rapporter à une action analogue à celle de la strychnine, et produite par le virus de la rage sur les divers centres de la moelle et du bulbe.

J'ai dit plus haut que l'expérience démontre le cheminement du virus le long des nerfs. A cela se rapportent cliniquement les douleurs irradiant de la cicatrice et suivant le trajet d'un filet nerveux. Pourtant la marche des phénomènes n'est pas à elle seule une preuve absolue de cette doctrine : elle résulte aussi de la comparaison des cas particuliers. Dans le cas de morsure au mollet, on voit se développer le tableau d'une myélite ascendante débutant par des troubles dans la miction et la défécation, et se

traduisant ensuite par des phénomènes spino-bulbaires, tels que les contractions pupillaires que j'ai signalées, le hoquet, la dysphagie, les troubles de la respiration. C'est alors la forme paralytique de la rage avec une paraplégie lombaire bien dessinée. Dans le cas d'une morsure au bras ou au visage, ce sont les phénomènes bulbaires qui apparaissent les premiers, et qui constituent la forme convulsive, furieuse ou bulbaire de la rage. Dans ce cas, les douleurs irradient de la cicatrice en suivant l'un des nerfs du bras ou le facial, pendant qu'elles suivaient le sciatique dans les morsures à la cuisse. Dans un des cas que j'ai observés, où la morsure avait eu lieu à la cuisse, la douleur s'étendit du point blessé dans la direction centripète, le long du sciatique, et saisit successivement la jambe, la cuisse, la région sacrée, et enfin la ligne paravertébrale.

Mais il n'y a pas à témoigner en faveur de la théorie nerveuse que la variété des formes cliniques, suivant le lieu de la morsure : quelques symptômes parlent dans le même sens. La salivation est un des plus nets. Au moment où la rage se déclare, à la période des phénomènes spino-bulbaires, la salivation apparaît, et donne une salive compacte, épaisse, qui est plus abondante et plus fluide pendant la phase délirante. Ceci se comprend en acceptant la marche centripète du virus. La salive de la période des phénomènes spino-bulbaires est le produit de l'irritation de la portion cervicale du grand sympathique, qui est excitée la première; la salive plus abondante et plus fluide qui vient ensuite est sécrétée sous l'influence de l'irritation de la couche corticale du cerveau.

En résumé, ce ne se sont pas seulement les symptômes expérimentaux et cliniques, mais aussi la pathologie histologique qui nous indique le sens de la propagation du virus rabique. J'ai dit plus haut que c'était le segment de la moelle en rapport avec les nerfs périphériques qui présentait la myélite la plus accentuée, et que l'on pouvait suivre la marche du virus à la diminution régulière de la maladie autour de ce point. Dans un cas de morsure à la jambe, par exemple, l'infiltration étant au maximum dans la moelle lombaire, diminuait à mesure qu'on montait vers les centres supérieurs. J'ai vu la chose se vérifier dans tous les cas que j'ai étudiés, et même, ce qui est bien probant, j'ai vu, dans un cas de morsure à un bras et à une jambe, le segment

Fig. 3.

cervical et le segment lombaire présenter les altérations les plus marquées.

Je me crois donc autorisé à condenser mes résultats dans les deux lois suivantes :

1° Dans la rage, la moelle subit une myélite aiguë complète, intéressant tous les tissus.

2° De ce que le segment de la moelle le plus atteint est celui qui est en communication nerveuse avec le lieu de la morsure, et de ce que de ce point les altérations diminuent quand on se rapproche des centres, on peut conclure au mode de propagation du virus, *et donner par conséquent, une base anatomique à la théorie nerveuse.*

EXPLICATION DE LA PLANCHE VIII.

Fig. 1. Moelle cervicale inférieure; *a*, corne gauche ramollie.

Fig. 2. Moelle cervicale; *n*, normale; *d*, dégénérée; *kd*, moins dégénérée.

Fig. 3. Moelle lombaire du même cas que la figure 2; *v*, hémorragie dans le canal central; *d*, dégénération.

Fig. 4. Cellule motrice de la corne antérieure; *h*, dégénération hyaline; *m*, noyau; *c*, cylindre-axe; *l*, leucocytes; *v*, veine.

Fig. 5. Canal central; *v*, partie ventrale; *d*, partie dorsale; *l*, leucocytes; *ke*, épithélium nécrotique.

Fig. 6. Dégénérescence fibreuse d'une cellule de la corne antérieure.

Fig. 7. Dégénérescence granuleuse du noyau. Les granulations colorées sont des produits pathologiques.

Fig. 8. Dissolution granuleuse du protoplasma.

Fig. 9. Dégénérescence du protoplasma.

Fig. 10. Dégénérescence de la moelle; *hc*, cylindre-axe hypertrophié; *hc'*, très hypertrophié; *dr*, gaine dégénérée; *nc*, cylindre-axe normal.

Les figures 1, 2 et 3 sont celles de moelles durcies par le liquide de Muller; les figures 4 et 9 ont été dessinées après coloration avec l'hématoxyline et l'éosine, la figure 10 après coloration de Weigert et l'éosine.

UNE ÉPIDÉMIE DE RAGE

SUR UN TROUPEAU DE DAIMS

Par M. ADAMI, M.A., M.B., M.R.C.S.,

Démonstrateur de pathologie à l'Université de Cambridge.

Pendant l'été et l'automne de cette année, une épizootie de rage s'est montrée sur un troupeau de daims à Ickworth, dans le comté de Suffolk (Angleterre), résidence du marquis de Bristol. Observée pour la première fois vers la fin du mois de juillet, la maladie disparaît seulement à l'heure actuelle ; et sur un troupeau estimé à environ 650 individus, il en est mort déjà près de 500. Cette terrible mortalité et le fait que la rage des daims est pour ainsi dire inconnue en dehors de l'Angleterre, rendent intéressante une brève relation, dans ces *Annales*, des principaux caractères de cette épidémie.

Il faut d'abord noter que, même en Angleterre, la rage du daim a seulement été observée pour la première fois par M. Cope, chef inspecteur de l'agriculture au conseil privé, qui a étudié les manifestations de la maladie apparue dans le parc de Richmond, pendant les années 1886-87. Son rapport au conseil privé, publié l'an dernier, complété par le rapport de M. Victor Horsley détaillant les inoculations expérimentales par lesquelles la nature de la maladie fut absolument prouvée, fournit une excellente description des symptômes et du cours de la maladie. Comme le dit M. Cope, les daims en Angleterre vivent dans des conditions que l'on ne rencontre nulle part ailleurs. Nous n'avons pas de larges forêts ; même nos parcs les plus étendus sont comparativement petits, et, comme conséquence, nos bêtes fauves ne sont qu'à moitié sauvages. Elles se laissent approcher de l'homme et des animaux. Donc, en Angleterre, un chien enragé a de bien plus grandes facilités pour mordre les daims qu'il n'en aurait dans d'autres contrées.

Il est impossible d'établir avec certitude le début de l'épizootie d'Ickworth. Vers la fin du mois d'avril, on a vu un chien enragé dans deux villages distants de plus de 20 kilomètres du parc, et éloignés l'un de l'autre du même nombre de kilomètres. Cet animal a été tué ; bien qu'on ne l'ait point vu à Ickworth, il est possible qu'il ait traversé le parc et qu'il ait mordu une daine qui venait de faire son petit, et qui, l'ayant à ses côtés, était incapable de se sauver ; il se pourrait aussi que, dans son désir de sauver sa progéniture, elle ait attaqué le chien.

Rien ne fut observé jusque vers le 20 juillet ; à cette époque le garde, trouvant plus de daims morts que l'on n'en rencontre à ce moment de l'année, fit des recherches à travers le parc, et, en un ou deux jours, il découvrit une mortalité qui ne faisait que croître.

Dans les parties du bois où les daims s'étaient retirés pour mourir à l'écart, il y avait un petit nombre de corps dans un état avancé de décomposition et beaucoup de cadavres récents. En faisant l'inspection du troupeau, on voyait chaque jour des animaux repoussés par leurs compagnons, montrant des symptômes de maladie, et mourant en quelques heures. Depuis la fin de juin jusqu'au 20 juillet on trouva 23 morts; pendant la semaine suivante, un minutieux examen du parc montra 92 morts ainsi que de nombreux squelettes. La table statistique suivante donne le relevé des morts de semaine en semaine.

	Daines.	Jeunes daims.	Daims castrés.	Prickets.	Total du troupeau des daines.	Total du troupeau des daims.
Jusqu'au 3 août. . .	12	13	3	3	31	0
Du 3 au 10 août. . .	19	13	1	1	34	0
Du 10 au 17 août . .	12	25	1	1	39	0
Du 17 au 24 août . .	16	26	0	»	42	12
Du 24 au 31 août . .	24	12	2	»	38	9
Du 31 août au 7 sept.	13	9	1	»	23	14
Du 7 au 14 sept . . .	10	15	3	»	28	27
Du 14 au 21 sept . .	2	10	0	»	12	7
Du 21 au 28 sept. . .	2	4	2	»	8	10
Du 28 sept. au 5 oct.	4	4	1	»	9	5
Du 5 au 12 oct. . . .	1	0	0	»	1	8
Du 12 au 19 oct. . .	0	0	0	»	0	1
Du 19 au 26 oct. . .	0	0	0	»	0	0
Du 26 oct. au 2 nov.	1[1]	2	0	»	3	0
Du 9 au 16 nov. . .	0	1	0	»	1	1

1. J'apprends par le garde chef de Ickworth qu'aucun animal n'est mort dans

Le rapport pour les semaines après le 17 août ne signale pas de différence entre les *prickets* et les daims adultes, et tous les daims sont compris dans la même catégorie; ceci néanmoins n'altère guère la précision réelle de ce tableau. Il se peut qu'un certain nombre de jeunes daims meurent dans la suite, non pas de rage, mais de la mauvaise nutrition, conséquence de la mort de leurs mères.

L'étude de la table ci-dessus prouve que pendant la première période de l'épizootie, c'est-à-dire depuis le commencement jusqu'au 17 août, il n'y eut pas de mort parmi les daims; la raison en est dans ce fait que, pendant la plus grande partie de l'année, les daims adultes restent à part et forment un troupeau ou des troupeaux séparés. Avec les femelles adultes il y a les jeunes, catégorie dans laquelle il faut comprendre les jeunes daines, les jeunes daims dans leur première année, les *prickets* ou jeunes daims dans leur seconde année et les *haviours* ou daims castrés. Or, la table montre que la maladie sur ce troupeau, que l'on peut appeler le troupeau des femelles, a atteint son maximum d'intensité pendant la semaine qui a pris fin le 24 août. La mortalité sur les daims adultes a commencé seulement cette même semaine et a atteint son plus haut point trois semaines après. Le 5 octobre, au moment où la rage a presque entièrement disparu parmi les daines, elle continue à affecter les daims.

Mais à ce moment, grâce à la surveillance exercée en séparant un grand nombre de daims du reste du troupeau et en tuant les animaux dès qu'ils montrent un symptôme de la maladie, la virulence de l'épizootie est grandement réduite, si bien qu'actuellement on peut dire qu'elle a pris fin.

Je passe maintenant aux caractères de la rage chez les daims. Déterminer la période d'incubation chez ces animaux, à moitié sauvages, est assez difficile. Chez un daim, isolé après avoir été mordu par une daine, le professeur Horsley trouva une période d'incubation de 19 jours. A Ickworth, M. Dadley, le garde-chef, qui m'a donné de nombreuses informations, trouva dans un cas 14 jours. La durée de la maladie, d'après le professeur Horsley, serait de trois à quatre jours. A Ickworth, depuis le

la portion séparée du troupeau à laquelle appartenait cette laine, depuis 20 jours. Ceci fixe la période d'incubation, dans ce cas, à plus de 20 jours. Cette daine a mordu beaucoup d'animaux, et, lorsqu'elle a été tuée, sa bouche était pleine de poils.

moment où l'animal quitte le troupeau en montrant quelques symptômes jusqu'au moment de sa mort, il s'écoule environ 30 heures.

On peut donner la description suivante des symptômes.

Le premier symptôme à noter pendant que l'animal ne s'est pas encore séparé du troupeau est une attitude particulière de la tête et du cou : le cou est tiré en arrière, peut-être grâce à des contractions opisthotoniques ; le daim renifle l'air et semble excité. Lorsque la rage a été diagnostiquée dans un troupeau, ce symptôme est celui qui ordinairement apparaît le premier, et l'animal qui en est affecté doit être détruit immédiatement.

Tant que l'animal reste avec le troupeau, c'est tout ce que l'on peut observer. Quand il devient absolument malade, il est chassé par ses compagnons, suivant le traitement appliqué par les daims à tout individu malade ou blessé: alors on peut observer d'autres symptômes. En général, l'allure et le mode de progression fournit un signe très caractéristique. Le daim enragé part soudainement, court à une petite distance et s'arrête brusquement, regarde autour de lui d'une façon inquiète, ou se met à paître pour repartir de nouveau. A mesure que la maladie progresse, la course est de plus en plus irrégulière, le corps oscille de droite à gauche, l'animal chancelle et offre l'apparence de l'ivresse. Plus tard les jambes de derrière s'affectent, et il y a une parésie qui va en augmentant, accompagnée de temps à autre par des contractions toniques des muscles du dos. A ce moment, pendant que l'animal court, souvent les jambes de derrière manquent, et le daim tombe: ou, lorsque l'animal n'est pas en mouvement, il prend une position dans laquelle les hanches s'abaissent, le dos s'incurve, les jambes de derrière s'étendent obliquement en arrière. Dans un certain nombre de cas, à Ickworth, la parésie a été le symptôme le plus marqué, augmentant jusqu'au moment où l'animal mourait de paralysie générale. Mais, dans la majorité des daims, a apparu cette forme de rage dans laquelle la parésie est associée aux spasmes tétaniques. L'animal se traîne en tombant fréquemment, il a des spasmes de la tête, du corps et des jambes, et il meurt en convulsions.

Dans la communication qui a paru dans le *British medical journal* du 12 octobre, je disais que tandis que les daines pa-

raissent présenter d'ordinaire la rage paralytique, les daims offrent plus de cas de la forme furieuse ; des recherches plus récentes faites à Ickworth m'amènent à la conclusion que cette appréciation demande quelques modifications. Je ne pense pas, à l'heure actuelle, qu'on puisse rien dire de général à ce sujet : mes premières recherches sur ce point ont été faites à un moment où la maladie commençait à se manifester sur les daims. Alors, à la suite de mes recommandations, les gardes ont commencé à observer avec attention les symptômes caractéristiques de la rage. Avant cette période, il m'avait été impossible de découvrir un signe défini d'excitation anormale.

Des exemples typiques d'une pareille excitation ont été depuis notés à Ickworth, et se présentent spécialement avant le début des troubles de l'appareil moteur. Un très grand nombre de daims mordent avec fureur leurs pattes, leurs côtés ou leurs flancs, et après la mort on trouve de larges et récentes blessures produites par ces morsures. On a vu un animal poursuivre un lièvre ; une daine se jeter sur un garde qui a échappé en lui lançant deux pierres ; elle prit l'une de ces pierres avec fureur dans sa bouche et la rejeta de côté ; quant à l'autre, elle l'avala. Un autre daim frappait violemment un petit arbuste (aubépine), cassant un grand nombre de branches. Il y eut des cas où l'animal sautait et mordait les branches des arbres. Le cas le plus intéressant de tous a été, je crois, observé par lord Francis Harvey qui, en compagnie du garde, a vu une daine se précipiter sur le troupeau, attaquer et mordre un grand nombre de ses membres avant de pouvoir être approchée et tuée.

Dans son rapport sur l'épidémie de Richmond, M. Cope insiste fortement sur un symptôme observé dans un grand nombre de nécropsies. Il trouve que dans beaucoup de cas, le front et l'espace compris entre les cornes étaient complètement dépourvus de poils, parce que les animaux frottent leurs têtes contre les troncs des arbres ou contre les poteaux. Ceci est arrivé très rarement à Ickworth. Cela s'explique : les daims d'Ickworth ont montré plus souvent la forme parétique de la rage, que la forme furieuse.

Il reste peu de choses à dire sur le diagnostic de la maladie. Quand il a été reconnu, dans le courant de juillet, qu'il y avait évidemment une maladie infectieuse sur les daims, peu ou point

de symptômes caractéristiques furent mentionnés. Les cadavres se décomposaient rapidement, et certains larges et longs bacilles ayant été trouvés dans la pulpe de la rate et dans les cultures faites avec cette pulpe, on déclara officiellement que cette maladie était l'anthrax. L'autopsie des corps m'a révélé d'abord qu'il y avait quelque chose rappelant l'anthrax : le sang était épais, non coagulé et très foncé ; la rate semblait plus large que de coutume, plus noire et plus molle ; le foie et les reins étaient congestionnés. Mais quand j'essayai de faire des cultures avec le sang ou la pulpe de la rate, j'eus toujours le même insuccès : ou bien la gélatine et la gélose restaient claires, ou bien j'avais une culture abondante des microbes de la putréfaction. M. H. Robinson, assistant du professeur de chimie à Cambridge, eut des résultats semblables. De plus, les lapins inoculés avec le sang, la pulpe de la rate ou ses cultures, résistaient à ces inoculations. Mais plus tard, quand nous avons été capables de nous rendre compte des symptômes, le professeur Roy et moi, et que nous avons posé le diagnostic de rage, l'inoculation intracranienne faite à un lapin par le professeur Roy, avec une émulsion du cerveau d'un cerf mort la veille, fut suivie 20 jours plus tard par la mort de l'animal en complète paralysie. Deux lapins inoculés intracraniennement par le professeur Roy avec une émulsion du cerveau de ce premier lapin moururent paralysés, l'un en 17 jours, l'autre en 19 jours. Donc, par les symptômes et par l'expérimentation, il a été établi que l'épizootie d'Ickworth était de nature rabique.

A mon grand regret, je n'ai pas pu obtenir la permission d'essayer une inoculation protectrice suivant la méthode de Galtier et de Nocard et Roux.

Mes plus sincères remercîments sont dus au professeur Roy pour les conseils et l'aide qu'il m'a aimablement donnés pendant le cours de ces investigations ; à M. H. Robinson et au docteur C.-S. Kilner, de Bury-Saint-Edmund, ville près de laquelle Ickworth est situé. C'est à M. H. Robinson que je dois la nouvelle de l'apparition de la maladie ; sans le secours du docteur Kilner, il m'eût été difficile de mener à bien mes investigations dans le parc lui-même.

REVUES ET ANALYSES

SUR LA PROPRIÉTÉ BACTÉRICIDE DES HUMEURS.

REVUE CRITIQUE.

J. Fodor. La propriété destructrice du sang sur les bactéries, *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1887, nº 34, p. 745. — G. Nuttall. Expériences sur les influences bactéricides de l'organisme animal, *Zeitschrift für Hygiene*, t. IV, 1888, p. 353. — F. Nissen. Contributions à la connaissance de la propriété bactéricide du sang, *Zeitschrift für Hygiene*, t. VI, 1889, p. 487. — H. Buchner. Sur l'action bactéricide du sérum sanguin privé de cellules. *Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde*, V, p. 817, et VI, p. 1, 1889. — H. Buchner. Sur la nature précise de la substance bactéricide du sérum, *Centralb. f. Bact. u. Paras.*, VI, nº 21, p. 561. — O. Lubarsch. Sur les propriétés bactéricides du sang et leur rapport avec l'immunité, *Centralb. f. Bact. u. Paras.*, VI, nºs 18, 19, p. 481.

Dans le courant des trois dernières années, on s'est beaucoup occupé de l'influence qu'exercent le liquide sanguin, l'humeur aqueuse, et quelques autres milieux liquides de l'organisme sur la croissance et la vie de certains microbes pathogènes et saprophytes. M. *Fodor*, de Buda-Pest, a été le premier à signaler le rôle bactéricide très prononcé du sang de lapins vis-à-vis des bactéridies charbonneuses. En injectant des cultures de ces microbes directement dans les veines, ou bien en les ensemençant dans le sang retiré de l'organisme, M. *Fodor* avait pu se convaincre d'une destruction très rapide d'un grand nombre des bactéridies introduites. Afin de s'assurer encore mieux de ce résultat, M. *Fodor* faisait des séries de cultures sur gélatine avec des bactéridies plongées dans du sang pendant un temps plus ou moins long. A l'aide de cette méthode, il put constater qu'après deux heures de séjour dans du sang de lapin, des bactéridies, primitivement en nombre énorme, étaient réduites au chiffre restreint de 300 à 8 bacilles.

Pour expliquer le fait que, malgré cette action bactéricide du sang sur les bacilles du charbon, le lapin reste néanmoins fort sensible à cette maladie, M. *Fodor* admet que ce sont les organes parenchymateux qui permettent aux bactéridies d'échapper à l'influence nocive

du sang et de s'y développer tranquillement jusqu'à la mort du lapin infecté.

Les expériences de M. *Fodor* ont été reprises sur une échelle beaucoup plus étendue par M. *Nuttall*, dans un travail fait dans le laboratoire de M. *Flügge* à Breslau.

Après avoir constaté que les bactéridies périssent dans des gouttes suspendues de sang et d'humeur aqueuse, M. *Nuttall* a fait plusieurs séries d'expériences sur la propriété bactéricide du sang défibriné de différents animaux (lapins, souris, pigeons, moutons, chiens), du liquide d'un exsudat pleurétique de l'homme, de l'humeur aqueuse et du liquide péricardique du chien et du lapin, vis-à-vis de la bactéridie charbonneuse, du *Bacillus subtilis*, du *B. Megaterium* et du *Staphylococcus pyogenes aureus*. Tandis que cette dernière espèce résistait parfaitement à l'action du sang, toutes les autres bactéries citées, et surtout le bacille charbonneux, périssaient plus ou moins totalement après un court séjour dans le sang et les autres humeurs animales. Pour juger de la puissance de cette action bactéricide, citons l'expérience de M. *Nuttall* dans laquelle une petite quantité de sang d'un lapin a détruit au bout d'une heure, en totalité, 15,000 bacilles introduits. Il faut du reste ajouter que cette action a présenté beaucoup de variations, suivant des circonstances qui ont pour la plupart échappé à l'observation.

Comme règle générale, M. *Nuttall* a pu constater que la faculté bactéricide du sérum ne persiste que pendant peu de temps. A partir de quatre heures après que les microbes ont été ensemencés dans le sang, celui-ci perd sa propriété de tuer les bactéries et leur sert au contraire de milieu nutritif favorable. Le nombre des microbes, très diminué pendant les premières heures d'action du sang, va toujours en croissant après la cessation de la période microbicide.

M. *Nuttall* a constaté également qu'un chauffage de courte durée du sang à une température de 52-55° lui enlève totalement sa propriété bactéricide.

Les résultats principaux de M. *Nuttall* ont pu être confirmés et élargis par des recherches, faites indépendamment par MM. *Nissen* et *Buchner*. Le premier de ces observateurs, qui a, comme M. Nuttall, exécuté son travail sous la direction de M. *Flügge*, a démontré avant tout qu'un coccus, vivant dans l'eau de source et désigné sous le nom de *coccus aquatilis*, périt au bout de 5 à 10 minutes dans le sang défibriné de lapin ou de chien. La destruction du vibrion du choléra asiatique est un peu plus lente, car elle exige l'action du sang pendant 20 à 40 minutes, tandis que le bacille typhique persiste jusqu'à deux heures. Cette destruction est totale, si on ensemence des quantités de 50 à 100,000 bactéries dans sept ou dix gouttes de sang *environ*.

Au-dessus de ce dernier chiffre le pouvoir microbicide du sang devient de plus en plus restreint.

M. *Nissen* a vu aussi que le chauffage prolongé pendant 20 à 30 minutes, à une température de 54 à 58° C., détruisait la faculté microbicide du sang.

Dans les expériences où cet observateur ensemençait, dans du sang d'un animal auquel il avait injecté peu de temps auparavant une grande quantité d'une espèce de bactéries, un mélange de ces bactéries avec une autre espèce, la propriété microbicide du sang diminuait pour l'espèce inoculée. Ainsi, chez un lapin auquel on avait fait préalablement une injection intra-veineuse du *Bacillus aquatilis*, M. Nissen a retiré du sang qui est ensemencé simultanément avec le même bacille et le vibrion du choléra. Ce dernier est détruit à la façon ordinaire, tandis que le *B. aquatilis* disparaît en beaucoup moins grande quantité. Inversement le sang détruisait beaucoup moins le microbe du choléra que le *B. aquatilis*, si c'était le premier qui était injecté auparavant dans les veines.

A la fin de ses recherches, M. *Nissen* prouve que le sérum sanguin du cheval exerce la même action bactéricide que le sang, et démontre encore que les microbes accélèrent la coagulation de la fibrine, se rapprochant en cela des leucocytes.

Comme une analyse des deux notes de M. *Buchner* a déjà paru dans le n° 9 de ces *Annales*, je me bornerai à rappeler au lecteur les résultats fondamentaux de ce savant. Après s'être assuré de la propriété bactéricide du sang de lapins et de chiens vis-à-vis de plusieurs espèces de bactéries, M. *Buchner* a pu constater que cette propriété réside dans le sérum qui, par lui seul, est en état de détruire un nombre fort grand, quoique non illimité, de bacilles typhiques et d'autres microbes. Mais, tandis que le sérum des lapins et des chiens exerce ce pouvoir à un très haut degré, celui du bœuf et du cheval ne présente aucune trace de cette propriété bactéricide.

M. *Buchner* a confirmé également ce fait que le sang, après avoir détruit un nombre considérable de microbes, devient pour ceux-ci un milieu très favorable, et donne finalement de belles cultures. Pour expliquer ce fait, paradoxal au premier abord, M. *Buchner* admet dans le sang deux influences opposées : tant que les hématies restent intactes, le sang manifeste pleinement son action bactéricide; mais une fois que les globules rouges périssent dans le liquide, leurs parties dissoutes fournissent l'aliment nécessaire à la propagation des microbes, et ceux-ci commencent à se multiplier plus ou moins abondamment. Comme preuve de cette théorie, M. *Buchner* cite des expériences qui démontrent que le sang dont les hématies sont dissoutes à

l'aide de gels et de dégels répétés, perd complètement sa propriété microbicide.

Il y a un point de grande importance sur lequel M. *Buchner* diffère de ses prédécesseurs. Tandis que M. *Nuttall* n'a vu la propriété bactéricide du sang se conserver que pendant quelques heures, dans les expériences de M. *Buchner* elle se maintenait dans une proportion considérable encore après 15 et 20 jours de séjour dans la glace.

Après avoir démontré que la propriété bactéricide réside non dans les éléments cellulaires du sang, mais bien dans le sérum, M. *Buchner* a entrepris une série de nouvelles expériences, afin de déterminer à quelle substance du liquide sanguin appartient cette propriété importante.

Une tentative pour déterminer cette substance à l'aide de la dialyse n'ayant pas donné de résultat positif, M. *Buchner* arriva à la conclusion que ce sont les matières albuminoïdes du sérum qui occasionnent la mort des bactéries. Mais, pour agir, ces substances ont besoin d'une certaine proportion de sels, et la suppression de ces sels occasionne la perte de la propriété microbicide du sérum. Pour M. *Buchner*, « l'état actif des matières albuminoïdes du sérum constitue un phénomène *sui generis* », qui est corrélatif avec l'état vivant de ce liquide et ne peut pas être pour le moment déterminé d'une façon plus précise. Des expériences de M. *Buchner* même, il s'ensuit que cet état vivant en dehors de l'organisme se prolonge quelquefois jusqu'à vingt jours.

Tous les auteurs cités sont unanimes à considérer la propriété bactéricide du sang et d'autres humeurs animales comme jouant un rôle considérable dans les phénomènes de l'immunité. Pour quelques-uns (comme M. *Nuttall* et M. *Nissen*), cette propriété rend inutile l'intervention des phagocytes, tandis que, d'après M. *Buchner*, ces cellules accomplissent aussi un rôle, quoique moins important que celui exercé par le sérum. Ce savant cherche même à établir une théorie de l'immunité, d'après laquelle ce phénomène serait dû à une propriété de l'organisme de conserver à l'infini l'état d'incubation [1], c'est-à-dire le maintien de la faculté microbicide des humeurs. Ainsi pour M. *Buchner*, un animal non réfractaire ne posséderait cette faculté que dans la période d'incubation, tandis que chez un animal naturellement indemne ou vacciné, la propriété bactéricide persisterait définitivement.

Dans ma critique du travail de M. *Nuttall* [2], j'ai déjà invoqué le

1. *Immunität und Immunisirung*, dans *Münchener medic. Wochenschr.*, 1889, nos 2 et 3.

2. *Archives de Virchow*, 1888, novembre. Une analyse de ce travail a été donnée dans le t. II de ces *Annales*.

fait que, contrairement aux données expérimentales de M. *Nuttall*, obtenues sur l'humeur aqueuse extraite de l'organisme de lapins, les bactéridies pullulent très bien dans ce milieu, et l'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil est un procédé très sûr pour donner le charbon.

Récemment M. *Lubarsch*[1] a entrepris une série de recherches spéciales afin d'établir le rôle de la propriété bactéricide du sang dans l'immunité. Après avoir confirmé les données principales de ses prédécesseurs sur l'action microbicide du sang extrait de l'organisme, M. *Lubarsch* a prouvé par des expériences directes que cette action ne correspond nullement avec les phénomènes de l'immunité. Ainsi, tandis qu'une goutte de sang extrait d'un lapin était en état de détruire plus de sept millions de bactéridies, un nombre beaucoup plus restreint, de 16,400 bacilles injectés dans la veine, était déjà suffisant pour donner le charbon mortel au même lapin. Un autre lapin, dont le sang a détruit en dehors de l'organisme plus de 53,000 bactéridies, succomba au charbon, à la suite d'une inoculation intraveineuse de 16,500 bacilles.

Pour expliquer ce résultat qui paraît paradoxal au premier abord, M. *Lubarsch* émet une théorie rappelant beaucoup celle de M. *Fodor*. Il admet en effet que les bactéries, rencontrant dans le sang des vaisseaux une influence nocive, se réfugient dans la rate, le foie et la moelle des os, où elles trouvent des conditions beaucoup plus favorables à leur développement. Ainsi le pouvoir bactéricide du sang, propre aux animaux non réfractaires, trouverait son contre-poids dans les organes parenchymateux.

Si on envisage l'ensemble des faits si laborieusement et si consciencieusement recueillis par les auteurs cités, on pourra facilement se convaincre que la propriété bactéricide des humeurs ne correspond nullement aux phénomènes de l'immunité. Ainsi les bactéridies sont détruites en grande quantité par le sang des lapins (animaux très sujets au charbon) et en nombre beaucoup moindre par celui d'un mouton vacciné (expériences de M. *Nuttall*). Le sang du lapin et du chien se comporte à peu près de la même façon vis-à-vis les bactéries (d'après MM. *Nissen* et *Buchner*), quoique la réceptivité du chien et du lapin soit bien différente. Tandis que le sang du lapin détruit si facilement la bactéridie, il n'a aucune influence nocive sur le *Bacillus fluorescens liquefaciens* ou le *B. aquatilis* (*Nissen*) qui ne sont pas du tout pathogènes. Le sérum du bœuf et du cheval sont en général privés de toute propriété bactéricide, etc.

1. Dans cette revue je ne traiterai que de la partie du travail de M. *Lubarsch* qui concerne la propriété bactéricide des humeurs. Ses objections contre la théorie des phagocytes seront analysées dans un autre article.

Il devient donc impossible de soutenir la thèse qui attribue à la faculté bactéricide des humeurs le rôle principal dans l'immunité. Ceci concorde parfaitement avec le fait, déjà bien connu et confirmé dernièrement par M. *Lubarsch*, que les spores de bactéridies germent dans le sang du chien (animal plus ou moins réfractaire au charbon), et y donnent des cultures de ce microbe. M. *Buchner* avoue ne pas avoir même risqué des expériences sur le pouvoir sporicide du sérum.

L'auteur que je viens de citer s'est déjà posé la question de savoir si, dans la destruction des microbes dans le sang, il n'y a pas une certaine part d'influence qu'il faut attribuer à l'état de concentration des humeurs bactéricides. En résumant les données sur ce sujet, il conclut par la phrase suivante :

« L'influence nocive du sérum sur les bactéries ne peut donc pas être due exclusivement à l'effet de concentration ; il s'agit ici de quelque action spécifique. » Il serait néanmoins très intéressant de déterminer la part que joue ce facteur purement physique, d'autant plus qu'il existe des phénomènes analogues dans la nature. On sait, d'après les expériences de MM. *Wolfhügel* et *Riedel*, que le vibrion du choléra asiatique, introduit dans l'eau, périt en grande proportion, mais qu'un petit nombre d'individus résiste à cette action destructive d'un milieu nouveau, et finit par se propager plus ou moins abondamment. M. *Gruber* a également constaté que ce vibrion se comporte de la même façon dans les liquides putréfiés. Après une période de destruction, il s'adapte aux conditions nouvelles d'existence, et se propage dans un milieu qui lui était d'abord défavorable. En changeant brusquement l'eau aux infusoires, on observe souvent une forte mortalité, tandis qu'il est facile d'habituer ces protozoaires à des changements successifs du milieu liquide ambiant. Il faut noter ici le fait que les bactéries, après une période de dépérissement, s'accommodent du milieu nouveau, que ce soit le sang ou même le sérum, liquide pour lequel on ne peut plus invoquer l'intervention d'une qualité nutritive surajoutée (comme celle des globules rouges dissous).

On peut encore citer le rôle destructif du liquide sanguin vis-à-vis des hématies d'autres espèces animales. De même que les diverses bactéries se comportent d'une façon différente dans l'humeur sanguine, de même les globules rouges de certains animaux périssent inégalement vite sous l'action destructive d'un sang étranger. Ainsi les hématies des lapins se dissolvent beaucoup plus facilement que celles des chiens et des chats introduites dans le sang d'autres mammifères. Certaines bactéries résistent plus ou moins à l'action du sang suivant qu'il vient de tel ou tel animal ; les hématies, elles aussi, se comportent d'une manière différente selon l'origine du sérum dans lequel on les plonge. Le

sérum du chien, par exemple, tue les hématies beaucoup plus vite que celui du cheval ou du lapin.

En examinant les méthodes de tous les auteurs qui se sont occupés de la propriété bactéricide des humeurs, nous verrons bien qu'ils n'ont pas suffisamment tenu compte de l'influence du changement brusque de milieu qu'ils imposent aux microbes. Ainsi MM. *Nuttall* et *Lubarsch* introduisaient dans le sang des émulsions de rates charbonneuses dans une solution de chlorure de sodium, M. *Nissen* ce servait dans le même but de cultures sur gélatine, et M. *Buchner* de cultures dans des milieux liquides. Aucun de ces expérimentateurs n'a opéré avec du sang charbonneux, ce qui eût présenté un avantage sérieux, d'abord parce qu'en introduisant dans le sang des microbes cultivés dans ce même milieu, on évite ainsi l'influence du changement trop brusque du liquide ambiant, et ensuite parce que dans le sang charbonneux les microbes sont, dans la plupart des cas, distribués d'une manière beaucoup plus égale que dans les cultures. Partant de ce point de vue, je me suis mis à étudier la propriété bactéricide du sang défibriné de lapins vis-à-vis des bactéridies introduites par du sang d'animaux charbonneux. Dans toutes ces expériences, le résultat était constant : le sang des lapins non réfractaires ou réfractaires au charbon ne détruisait jamais les bactéridies provenant du sang de lapins ou de cobayes charbonneux. Je me propose de décrire à un autre moment ces expériences, qui démontrent le rôle important que joue la méthode d'expérimentation dans la recherche de la manière d'être des microbes dans les humeurs animales [1].

Parmi les objections contre la théorie des phagocytes, on a souvent mis en avant la possibilité d'une influence purement humorale qui détruirait les microbes ou préparerait leur destruction définitive dans les cellules. Il est tout naturel qu'après avoir constaté l'existence d'une propriété bactéricide des humeurs, on lui ait attribué ce rôle que, pendant si longtemps, on ne savait à qui donner. Mais plus on s'avançait dans l'étude de cette propriété, plus il devenait évident qu'elle ne se trouve pas en rapport avec les phénomènes de l'infection et d'immunité, ce qui fournit une raison de plus pour ne pas négliger le rôle important des éléments cellulaires. Encore dois-je ajouter qu'en affirmant l'exclusion complète des leucocytes dans l'action du sérum vis-à-vis des bactéries, les auteurs cités n'ont pas tenu compte de l'existence dans le sérum préparé de substances mises en liberté à la

1. En envisageant tous ces résultats sur la différence de la propriété bactéricide du sang défibriné, non chauffé d'un coté, et du sang défibriné chauffé, ou du sang intraveineux de l'animal vivant de l'autre, il ne faut pas oublier les différences que peuvent présenter ces milieux sous divers rapports.

suite de la destruction des leucocytes. On a constaté à plusieurs reprises qu'en sortant de l'organisme, un nombre considérable de ces cellules éclate, et rejette son contenu dans le liquide environnant.

El. Metchnikoff.

SUR LES ANTISEPTIQUES.

REVUE CRITIQUE.

R. Koch. *Mittheilungen a. d. K. Gesundh.*, t. I, p. 234. — Virchow et Hausmann. Assainissement et canalisation de Berlin, 1, p. 152. — Guttmann. *Virchow's Archiv*, t. 107, p. 459. — Esmarch. *Zeitschr. f. Hyg.*, t. V, p. 67. — Schell et Fischer. Sur la désinfection des crachats des phtisiques, *Mittheil. d. k. Gesund.*, t. II, p. 131. — Geppert. Sur la question des antiseptiques, *Berl. Klin. Woch.*, 36, 1889. — Jaeger. Recherche sur la puissance de différents moyens chimiques de désinfection, agissant pendant une courte durée, *Arbeiten a. d. k. Gesund.*, t. V, 1889. — Woronzoff, Winogradoff et Kolesnikoff. Influence des désinfectants sur le contage du charbon. *Centralbl. f. Bact.*, 1887. — Yersin. Action de la chaleur sur le bacille tuberculeux, *Ann. de l'Institut Pasteur*, t. II, p. 60. — Hueppe. Sur les propriétés désinfectantes et antiseptiques de l'aseptol, *Berl. Klin. Wochenschr.*, 1886. — C. Fraenkel. Les propriétés désinfectantes du crésol, *Zeitschr. f. Hyg.*, 1889. — Behring. Sur l'estimation de la valeur antiseptique des préparations chimiques, avec examen spécial des certains sels de mercure, *Deutsche med. Woch.*, 1889, n°s 41, 42 et 43.

L'étude des antiseptiques se complique de jour en jour. J'avais essayé en 1883, dans ma Microbiologie, de montrer qu'elle était loin d'être aussi simple qu'on le croyait généralement à cette époque. On m'avait accusé de compliquer inutilement la question, de la faire sortir du domaine pratique qui était le sien, pour en faire une question scientifique. Mes modestes exigences n'ont rien perdu de leur valeur, mais elles sont bien dépassées aujourd'hui, et nous voyons intervenir dans la définition d'un antiseptique une foule de notions subtiles que nous n'y apercevions pas autrefois.

Là-dessus, les praticiens vont encore hocher la tête. Que nous importent, diront-ils, toutes vos subtilités? Dites-nous seulement comment nous pouvons désinfecter un navire, une salle d'hôpital, un vêtement

contaminé, une plaie, sans quoi nous serons obligés de le chercher nous-mêmes. Cherchez, répondent à leur tour ceux qui connaissent les difficultés de la question, cherchez, et vous ne trouverez pas. C'est une turlutaine que de vouloir se passer d'un examen scientifique sérieux dans une question délicate, que de confondre la théorie avec ses applications, et de demander à la pratique ce que la science refuse. Elle vous répondrait si la réponse était facile; quand elle se réserve et se recueille, c'est qu'il le faut. A chercher à se passer d'elle, les études sur les antiseptiques n'ont gagné que de s'encombrer de résultats qui se contredisent les uns les autres, et entre lesquels on ne peut faire un choix, précisément parce qu'ils ont été souvent obtenus en dehors des conditions d'une étude précise. Il faut donc abandonner cette méthode, scruter avec de plus en plus de soin le phénomène, faire de la science, en un mot. Quand elle sera faite, les applications viendront toutes seules, et se feront avec une sécurité qui leur a manqué jusqu'ici.

C'est au moins cette conviction qui nous pousse à entretenir nos lecteurs de quelques travaux récents sur les antiseptiques. Bien qu'ils aient, comme on le verra, des objets assez divers, ils s'éclairent les uns les autres, et, soit en les rapprochant, soit en les mettant en opposition, nous en tirerons des notions intéressantes.

Étudions d'abord les questions de méthode. Tout le monde sait qu'on a été conduit à renoncer peu à peu aux méthodes anciennes dans lesquelles, sous prétexte de pratique, on essayait l'action des antiseptiques sur des mélanges variables de bactéries inconnues, telles que celles qui peuvent se développer dans de l'eau de foin ou du bouillon, exposés à l'air, ou ensemencés avec des poussières quelconques. On a vu tout de suite que, vis-à-vis d'un antiseptique donné, chaque espèce avait sa faculté de résistance, et qu'il fallait opérer avec des cultures pures.

C'est ce qu'a fait M. Koch en imbibant de la culture un fil de soie qu'il plongeait, avant ou après dessiccation, dans un bain d'antiseptique, et qu'il lavait ensuite avant de l'introduire dans le bouillon nutritif. Une autre méthode, aussi souvent employée que la précédente, consiste à faire un mélange de l'antiseptique et de la culture, et après le temps voulu de contact, à prélever une prise d'essai qu'on ensemence dans un milieu favorable.

L'inconvénient de ces deux méthodes, c'est qu'on transporte dans ce milieu, en même temps que les germes de microbes traités par l'antiseptique, un peu de cet antiseptique, dont la présence peut gêner le développement du microbe. La chose est évidente pour la seconde méthode, et il faut savoir gré à M. Yersin d'avoir éliminé, dans la

mesure du possible, cette cause d'erreur, en soumettant la prise d'essai à un lavage préalable dans de l'eau stérile, avant de la soumettre à l'ensemencement.

Pour la méthode de Koch, la cause d'erreur est moins apparente, car on lave le fil avec un jet d'eau stérile avant de le porter sur de la gélatine nutritive. Mais M. Geppert fait observer avec raison que ce lavage est souvent illusoire. Il suffit, d'après M. Koch lui-même, de 1/100,000 de sublimé dans une solution pour y entraver la culture du bacille charbonneux. D'un autre côté M. Koch a trouvé qu'il suffisait de plonger quelques instants, dans une solution de sublimé à 1/1,000, un fil chargé de spores charbonneuses pour le stériliser. Mais ce fil, qui sort d'une solution à 1/1,000, a besoin d'être bien soigneusement lavé pour ne pas apporter avec lui la dose minime de sublimé suffisante pour entraver la culture. On est donc exposé à croire mortes, parce qu'elles ne se développent pas, des spores bien vivantes, mais gênées par l'antiseptique qu'elles ont apporté avec elles du bain où on les a plongées.

On croit d'ordinaire se mettre à l'abri de cette cause d'erreur en semant une culture fraîche sur ce milieu qui est resté stérile. Si elle s'y développe, on conclut que le milieu est encore bon, et que par suite c'était la semence antiseptisée qui était morte. Mais rien n'est moins sûr que cette conclusion, car cette semence, sans être morte, pouvait être assez affaiblie pour ne pas pousser en présence d'une dose d'antiseptique qui est indifférente à une semence saine et bien portante.

Outre cette cause d'erreur, M. Geppert en signale une autre, celle-ci relative à la méthode dans laquelle on mélange directement l'antiseptique et le liquide de culture. C'est que ce dernier renferme souvent des amas volumineux, des glœas de microbes dont l'intérieur et l'extérieur ne subissent pas la même action. Il est clair que la cause d'erreur pourra être surtout très active avec les antiseptiques qui déterminent la formation d'un précipité albumineux, comme c'est le cas pour beaucoup. Aussi M. Geppert soumet-il toutes ses cultures, avant de les étudier, à une filtration au travers d'une bourre de coton ou de verre, pour en éliminer tout ce qui dépasse un certain degré de grosseur.

Voici alors le procédé original qu'il met en œuvre pour montrer l'influence de l'antiseptique apporté par la semence dans le milieu nutritif. Après avoir fait un mélange de spores charbonneuses, sortant du bichlorure de mercure, avec quelques gouttes d'eau, il en prélève une gouttelette qu'il porte dans de la gélatine nutritive. Il ajoute ensuite à ce mélange assez de sulfhydrate d'ammoniaque pour y précipiter tout le mercure que la semence aurait pu y apporter, et y reprend une nouvelle gouttelette qu'il ensemence comme la première. Les résultats sont très différents dans les deux cas.

Avec la gouttelette qui n'a pas été débarrassée de tout son sublimé, les résultats sont du même ordre que ceux de M. Koch : c'est après 7 minutes de contact avec la solution à 1/1,000 qu'elle ne donne plus de culture. Mais l'autre ne reste stérile que si le contact a duré plus d'une heure, et il est même arrivé, une fois sur cinq essais, que des spores, libérées de tout contact avec le mercure, se sont montrées fécondes après 24 heures de séjour dans l'antiseptique.

Voilà donc que les spores charbonneuses résistent beaucoup mieux à l'action du bichlorure de mercure qu'on ne l'avait cru jusqu'ici, et il est clair, *a priori*, que nous sommes exposés à des surprises analogues avec les autres antiseptiques. On ne peut même pas dire que l'effet de cette cause d'erreur soit d'autant plus grand que l'antiseptique est plus puissant, car tout est relatif. Si un fil qui sort d'une solution de sublimé à 1/1,000 emporte avec lui assez de sel, malgré le lavage, pour arrêter le développement des spores dont il est chargé, il risque, en sortant de l'acide phénique à 5 0/0, d'emporter avec lui 50 fois plus de cette substance, et d'être encore gêné par elle, bien qu'elle soit moins active que le bichlorure, dans le milieu où on l'ensemencera. Il est donc certain que dans toutes les expériences faites jusqu'ici, on a superposé, dans une proportion inégale, l'effet de l'immersion d'une durée connue dans un antiseptique, et l'effet variable et de durée inconnue qu'exerçait la petite quantité d'antiseptique introduite dans le milieu de culture. Conclusion : il est nécessaire d'éliminer cette cause d'erreur, si on veut avoir des résultats précis.

Voici une nouvelle cause d'incertitude. Nous avons toujours raisonné jusqu'ici comme si un microbe était toujours semblable à lui-même, vis-à-vis de l'influence qu'il éprouve de la part des antiseptiques. Il serait bien étonnant qu'il en fût ainsi. Les microbes d'une même culture pure sont très inégalement résistants vis-à-vis de la chaleur, de la lumière, de toutes les influences nocives qu'on a essayées sur eux. Il n'y a aucune raison pour qu'il n'en soit pas de même vis-à-vis des antiseptiques. En fait, Esmarch, en cherchant à expliquer les contradictions des résultats de Koch et de ceux de Guttmann, au sujet de la résistance des spores charbonneuses vis-à-vis des solutions à 5 0/0 d'acide phénique, les a attribuées à des différences dans la nature des spores, dont quelques-unes mouraient après 4 jours de contact avec cette solution, et d'autres en exigeaient 40. C. Fraenkel a vu à son tour que cette résistance était une propriété héréditaire de race, et qu'on pouvait obtenir des races présentant presque de la constance sous ce rapport. Il a eu soin naturellement, dans ses expériences, que nous retrouverons plus loin, de choisir la race la plus résistante, capable de supporter plus de 40 jours l'action d'une solution à 5 0/0 d'acide phénique. D'après ses essais, cela correspond à une résistance de 40 mi-

nutes dans le sublimé à 1/2,000, de 20 minutes dans le sublimé à 1/1,000.

Les différences qu'on relève ainsi, entre les divers individus d'une même culture, ne sont pas hors de proportion avec celles qu'on peut observer dans l'action de la lumière ou de la chaleur, et bien qu'*a priori* nous n'ayons pas le droit d'admettre que la grandeur de la résistance est proportionnelle à sa durée, il suffit qu'elle soit variable pour nous faire apercevoir une cause d'incertitude qui a certainement sévi sur les travaux anciens, et à laquelle devront désormais échapper les expériences d'antisepsie, pour être comparables.

Les résultats qui précèdent sur les variations et les caractères héréditaires de la résistance n'impliquent pas du tout, remarquons-le tout de suite, que toutes les spores de ces diverses cultures inégalement résistantes soient identiques entre elles. Ce sont les plus résistantes qu'on retrouve vivantes après chaque essai, mais la dose d'antiseptique qui les a laissées vivre a pu tuer, dans la même culture, des spores moins bien protégées. C'est un point qu'on oublie trop souvent quand on parle de la virulence d'une culture. Elle n'est souvent pas le fait de la culture dans son ensemble, mais celui de quelques-uns des êtres qui la composent. En tout cas, ces différences individuelles, qui se sont révélées ailleurs, reparaissent dans les essais de M. Geppert. A mesure qu'il prolonge, sur une culture donnée, l'action d'une dose donnée d'antiseptique, il voit diminuer de plus en plus le chiffre des colonies obtenu par sa méthode, c'est-à-dire en transportant sur une gélatine nutritive une même quantité de semence traitée par un sulfure alcalin. La mort n'est donc pas ici un phénomène brusque, et ce n'est que peu à peu qu'elle atteint les diverses cellules.

La ressemblance entre les effets de la chaleur et ceux des antiseptiques se poursuit si on porte l'étude sur le terrain de la virulence. M. Roux a montré (ces *Annales*, t. I) que les spores de bactéridie, traitées par la chaleur, avaient en apparence perdu leur virulence, parce qu'elles ne tuaient pas les animaux auxquels on les inoculait, mais elles ne les vaccinaient pas, et leurs cultures redevenaient aussitôt virulentes. Il n'y avait donc pas, à proprement parler, d'atténuation véritable. Les spores charbonneuses, traitées par les antiseptiques et inoculées à des animaux sensibles, semblent aussi rester inoffensives, et se rapprocher ainsi des spores affaiblies par l'action de la chaleur. Mais M. Geppert montre qu'elles tuent au contraire très bien l'animal auquel on les inocule, si on les débarrasse au préalable de leur sublimé au moyen du sulfhydrate d'ammoniaque. La raison qui les empêche de pousser dans les tissus de l'animal est donc la même que celle qui les empêche de peupler un milieu nutritif nouveau. A côté de leur faiblesse acquise, il y a l'action de l'antiseptique qui les accompagne,

si bien que lorsqu'on les inocule en suspension dans l'antiseptique pour exagérer l'action de ce dernier, on peut avoir des désinfections en apparence très rapides. Ainsi, il suffit quelquefois d'une ou deux minutes de contact des spores avec une solution de sublimé à 1 millième pour que l'inoculation du mélange à un cobaye reste sans effet. Mais si après une heure de contact, on élimine le sel mercuriel par l'action du sulfhydrate d'ammoniaque, on retrouve les spores virulentes. M. Geppert les a même vues tuer un cobaye après 24 heures de contact avec l'antiseptique, et alors, chose singulière, qu'elles ne pouvaient plus peupler un milieu artificiel à la gélatine, dans lequel on les ensemençait.

Il y a dans ce dernier résultat, qui s'est produit plusieurs fois, quelque chose de paradoxal. On comprend difficilement qu'une spore qui peut se developper chez un cobaye malgré la résistance vitale, n'y réussisse pas dans un milieu inerte, si ce milieu est convenablement préparé. Peut-être y a-t-il là une influence des milieux à la gélatine, bien moins favorables, on le sait, que les bouillons nutritifs. Mais M. Geppert n'insistant pas sur l'explication, nous l'imiterons, et nous nous contenterons de tirer de ce qui précède la conclusion que ce n'est qu'au bout d'un temps beaucoup plus long qu'on ne pouvait le croire, que la spore bactéridienne, exposée à l'action d'un antiseptique, devient réellement incapable de tuer un animal. M. Geppert n'a pas essayé si ses animaux qui avaient résisté étaient ou non vaccinés, et il ne dit pas bien précisément qu'il n'y a pas d'atténuation, mais quand on voit des spores donner encore des cultures virulentes après 8 minutes de contact avec une solution de sublimé au millième, on est conduit à penser qu'il n'y a pas plus d'atténuation veritable ici que sous l'action de la chaleur. Pour avoir des races atténuées, il faut faire agir la vie en même temps que l'antiseptique, faire des cultures dans des milieux légèrement antiseptisés, comme MM. Roux et Chamberland l'ont fait avec le bichromate de potasse ou l'acide sulfurique.

On voit combien se complique, à mesure que nous y pénétrons, une question en apparence très simple. Nous n'avons pas fini. Jusqu'ici nous sommes restés sur le terrain des faits généraux. M. Geppert a, en effet, retrouvé dans l'action de l'acide phénique à des doses variables les effets que nous venons de signaler à propos du sublimé. Mais, si nous entrons dans le domaine des faits particuliers à chaque antiseptique, nous verrons que chacun obéit, pour ainsi dire, à des lois spéciales. Cette étude promet donc d'être compliquée. La seule manière de nous retrouver dans ce dédale est d'étudier ces lois, de tâcher d'y saisir un certain nombre de traits communs, et de rapprocher ainsi les antiseptiques qui se ressemblent, de faire, en un mot, dans la mesure

du possible, une classification rationnelle de ces antiseptiques, en prenant pour guide l'étude de leurs propriétés.

Je n'ai pas besoin de dire qu'un aussi vaste problème n'est pas encore résolu. A peine s'il est encore bien compris. Il existe pourtant dans la science quelques éléments de solution qu'il est utile d'essayer de confronter les uns avec les autres. Dans l'impossibilité de parler de tout sans faire de cette revue des antiseptiques un véritable volume, nous allons choisir un certain nombre de substances sur lesquelles des travaux récents vont nous permettre de nous faire une opinion.

Prenons d'abord le groupe des substances alcalines, potasse, soude et chaux. On sait qu'elles figurent, sous diverses formes, dans les prescriptions de nombreux conseils d'hygiène et commissions sanitaires. Le badigeonnage à la chaux passe depuis longtemps comme un moyen excellent de désinfection des murailles, et il y a longtemps aussi que MM. Virchow et Haussmann, dans leur étude sur le procédé Suvern, ont montré que la chaux avait la propriété d'englober les microbes d'une eau d'égout dans le précipité qu'elle y forme. De plus, ils avaient vu que la désinfection ainsi obtenue était passagère, et que l'eau clarifiée se peuplait à nouveau. De son côté, M. Koch avait trouvé l'eau de chaux très peu efficace sur les spores du charbon. En revanche, Liborius avait vu qu'à la dose originaire de 0,007 0/0, la chaux stérilisait en 24 heures une eau renfermant, par centimètre cube, un million de germes de la fièvre typhoïde, et, à la dose de 0,024 0/0, une eau renfermant de même 12 millions de germes du choléra. Ces résultats divers ont mis l'eau de chaux à l'étude, et M. Jaeger lui a consacré un assez long travail.

Ce travail a pour objet, comme l'indique son titre, de trouver des moyens de désinfection rapides, applicables dans la pratique et efficaces. Le badigeonnage est un de ces moyens. Mais il porte d'ordinaire sur des microbes très variés, tels que ceux qu'on trouve sur les murs d'un lazaret, ou les cloisons d'un navire. M. Jaeger a compris qu'on ne pouvait faire d'études fructueuses qu'en s'éloignant en ce point des conditions de la pratique, et en opérant sur des espèces de microbes déterminées. Il imbibe un fil d'une culture pure, l'applique sur une planchette de bois, et, après l'avoir laissé sécher, il le badigeonne à 1, 2 ou 3 reprises avec l'antiseptique à diverses doses. Au bout de quelque temps de contact, il reprend le fil, il lui fait subir un lavage sommaire en l'enfonçant, à l'aide d'un couteau flambé, dans un milieu de culture demi-solide, gélatine ou pomme de terre suivant les cas. Il le reporte en un autre point, pour voir s'il s'y fait une culture. Quand le microbe étudié est pathogène, il fait aussi des tentatives d'inoculation.

Il est clair que cette méthode relève un peu des objections mises

en lumière par M. Geppert. Le lavage peut être insuffisant pour éliminer l'action de l'antiseptique dans le milieu de culture. On trouve en outre, dans le travail de M. Jaeger, trop peu de détails sur des conditions expérimentales qui ne sont pas sans importance. Il n'y a pas, par exemple, un seul relevé thermométrique. A-t-il fait ses expériences de badigeonnage en été ou en hiver? n'est-il pas exposé à voir contredire ses résultats par un autre savant qui opérerait en hiver ou en été? Voilà qui reste incertain. Néanmoins, comme ses résultats sont comparatifs et qu'il a étudié par le même procédé des microbes très divers, ses conclusions présentent une certaine importance.

Nous allons les réduire à leurs éléments essentiels de la façon suivante : M. Jaeger a badigeonné ses cultures avec 3 laits de chaux différents, faits avec 1 partie de chaux pour 2, 5 et 20 parties d'eau. Nous les appellerons laits *a*, *b* et *c*. Le premier était pâteux, le second épais, le troisième était un lait clair. Chaque fil chargé de culture recevait un ou plusieurs badigeons, en général à intervalles égaux. Nous négligerons les variations qu'ont présentées ces intervalles, d'abord parce qu'elles ne sont pas toujours indiquées, en second lieu parce qu'elles n'ont qu'une médiocre importance. Il suffisait qu'une nouvelle couche fût passée avant le moment où la chaux de la première avait été saturée par l'acide carbonique de l'air. L'ensemencement a été fait deux heures après le dernier badigeon. Nous ne donnerons que la combinaison des doses et du nombre de badigeons la plus rapidement mortelle. Ainsi *a* et 2 *b* pour le *micrococcus prodigiosus* signifiera qu'il a fallu, pour le tuer, ou une couche du lait *a*, ou 2 du lait *b*, à 2 heures de distance; et que 3 couches du lait *c* n'ont pas suffi à stériliser le fil. En ce qui concerne les microbes pathogènes, les données du tableau sont celles qui empêchent le succès des inoculations sur l'animal vivant. Il n'y a d'exception que pour le *staphyl. pyogenes aureus* et le *bacille du typhus*, qu'on a traités comme les microbes non pathogènes.

Cela posé, voici la synthèse des résultats :

Mic. prodigiosus.	1 *a* ou 2 *b*
Mic. aurantiacus	2 *a*
Levure rose.	2 *a*
Mic. tetragenus	1 *a*
Staphyl. pyogenes aureus. . .	1 *a*
Mic. du choléra des poules. .	1 *c*
Rouget des porcs	1 *c*
Perte porcine (Loeffler-Schutz)	1 *c*
Id. (Bang).	1 *c*
Septicémie des souris.	1 *a*
Bacilles du typhus	1 *a*
Bacilles du charbon.	1 *a*

Je laisse de côté quelques expériences contradictoires sur la désinfection de la terre de jardin et du bacille de la morve. Je n'ai pas non plus mentionné dans ce tableau les spores charbonneuses et le bacille de la tuberculose, parce qu'on n'a pas réussi à les rendre inoffensifs pour les animaux, même avec 3 couches d'un lait formé à parties égales de chaux et d'eau, et après 24 heures de contact. Ces deux espèces se montrent donc très résistantes vis-à-vis de la chaux.

Il est vrai qu'on ne voit pas bien à quoi correspond, dans les expériences de M. Jaeger, l'emploi de laits de chaux aussi concentrés. Il semble qu'il suffise de maintenir saturée la solution de chaux qui pénètre à l'intérieur de la cellule vivante, et agit sur son protoplasme. Il n'y a pas besoin pour cela d'aussi grandes quantités de chaux vive. L'excédent ne sert sans doute que de protection contre l'acide carbonique de l'air. On aurait pu opérer de façon à dissocier ces deux influences, mais n'oublions pas que M. Jaeger cherche, avant tout, par des voies qu'il tâche de rendre les plus scientifiques possible, le problème pratique de la désinfection.

Nous avions pourtant besoin de cette observation sur l'énormité des doses de chaux employées, eu égard à la solubilité de cette substance, pour rapprocher ces résultats obtenus avec la chaux de ceux que M. Jaeger a rencontrés avec l'étude de la potasse ou de la soude. Ici, les doses sont un peu différentes; la méthode de travail est en outre changée. Il ne s'agit plus de badigeonnages, mais d'immersion de la durée d'une minute dans l'antiseptique, suivie, deux heures après, d'un ensemencement. Pourtant l'ordre de résistance est à peu près le même que ci-dessus. Il suffit d'une minute d'immersion et ensuite de 2 heures de contact d'un fil avec une solution de potasse à 1 0/0 pour tuer les microbes du choléra des poules, du rouget, de la peste porcine et les bacilles charbonneux. Il faut une solution à 7,5 0/0 pour tuer ceux de la morve et le *mic. tetragenus*. Les spores du charbon ne sont pas sûrement tuées par cette liqueur fortement alcaline, et les bacilles de la tuberculose lui résistent.

La soude se comporte comme la potasse aux mêmes doses. Cette relation n'est pas très précise, car, à cause de la différence des équivalents, une solution de soude à 1 0/0 est environ une fois et demi plus alcaline qu'une solution de potasse au même titre, mais elle n'en est pas moins intéressante à signaler.

Enfin, on trouve aussi dans le mémoire de Jaeger, qu'une solution de carbonate de soude à 5/1,000, employée comme la solution précédente, tue le microbe du choléra des poules et de la peste porcine. Il faut monter à 2 0/0 pour tuer les bacilles du rouget; à 5 0/0 pour le *micrococcus tetragenus* et le bacille du charbon. Enfin, avec une solution

saturée, à 16 0/0 environ, on n'a pas réussi à tuer les spores charbonneuses, et le bacille de la tuberculose.

Il y a bien quelques irrégularités dans tous ces résultats : il faut dire tout de suite qu'ils n'ont pas été recherchés en vue d'une comparaison, et que M. Jaeger avait un tout autre point de vue que nous. Mais il suffit de les rapprocher pour se convaincre que si la potasse, la soude et la chaux ont une action spécifique, cette action est cachée derrière une influence prédominante due à leur caractère commun d'alcalinité ; en d'autres termes, c'est comme alcalis que ces substances ont un effet antiseptique. Nous voyons en outre, ce qui n'est pas moins intéressant, que les spores charbonneuses et surtout les bacilles de la tuberculose sont extrêmement résistants vis-à-vis des alcalis.

Nous allons trouver de tout autres résultats et un tout autre ordre de résistances en étudiant le goudron et ses produits dérivés.

Pour le goudron, il n'y a pas grand'chose à en dire. On l'a préconisé et on l'emploie en effet en badigeonnages ; le goudron de bois passe pour plus actif que le goudron de houille, parce qu'il contient plus de créosote. Pour des expériences précises de laboratoire, il présente l'inconvénient d'être insoluble dans l'eau et de n'être jamais identique à lui-même ; c'est ce qui explique peut-être qu'il ait donné, entre les mains des savants, des résultats si divers. M. Koch l'avait vu par exemple impuissant à tuer au bout de 20 jours des spores charbonneuses sur un fil de soie. MM. Woronzoff, Winogradoff et Kolesnikoff avaient, au contraire, vu ces spores périr après 20 à 60 minutes d'immersion dans un goudron. Il est vrai que d'autres fois elles avaient résisté plus de 24 heures. Ces contradictions ne sont pas surprenantes avec une substance de composition si variable et aussi difficile à mettre en contact avec le protoplasma de la spore. M. Jaeger trouve qu'une minute d'immersion, dans le goudron de bois ou dans le goudron de houille, d'un fil chargé de microbes, qu'on laisse se dessécher ensuite, tue tous les microbes pathogènes qu'il a étudiés, sauf les spores du charbon et les bacilles de la tuberculose. Ces derniers résistent avec le goudron de houille ; mais, une fois sur deux, ils n'ont pas infecté l'animal auquel on les a inoculés, après avoir été traités par le goudron de bois.

Cette action du goudron sur un microbe que nous avions vu si résistant jusqu'ici nous conduit à l'étude de l'acide phénique et des composés divers, appartenant presque tous à la série aromatique, qu'on trouve en plus grande abondance dans le goudron de bois que dans l'autre. Nous trouvons tout de suite, dans cette direction, des résultats à rapprocher de ceux qui précèdent.

MM. Schill et Fischer ont vu qu'une solution à 5 0/0 d'acide phé-

nique brut détruisait, après 2 jours de contact, la virulence des bacilles d'un crachat. On trouve des nombres encore plus petits dans le travail de M. Yersin. Il a vu que des bacilles, plongés 30 secondes dans une solution d'acide phénique à 5 0/0, ou une minute dans une solution à 1 0/0, étaient incapables de peupler un bon milieu de culture. Ces résultats ont été confirmés depuis. M. Jaeger a trouvé en effet qu'après une minute d'immersion dans une solution à 5 0/0 d'acide phénique impur, auquel nous conserverons son ancien nom d'acide carbolique, des cultures de tuberculose devenaient incapables de contagionner l'animal auquel on les inoculait. Mais chose singulière, elles restaient virulentes après une immersion de même durée dans une solution à 2 et 5 0/0 du mélange d'acide carbolique avec l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique, suivant la formule de Laplace. En échange, dans ces divers mélanges, les crachats tuberculeux étaient parfaitement désinfectés. Une solution contenant 4 0/0 d'acide carbolique brut et 2 0/0 d'acide chlorhydrique tuait aussi, après 1 minute d'immersion, des spores charbonneuses.

Bien qu'il y ait quelque chose d'irrégulier dans tous ces résultats, ils n'en montrent pas moins que nous sommes en possession d'un moyen de tuer, en restant dans les conditions de la pratique, ces spores charbonneuses et ces bacilles tuberculeux, peut-être sporifères, qui nous semblaient si résistants tout à l'heure. De plus, ce qui est non moins intéressant et ce sur quoi il est surtout utile d'attirer l'attention, cette propriété semble appartenir à divers corps de la série aromatique, car nous allons la retrouver avec la créoline et la crésoline.

La créoline est une substance que M. Pearson a le premier livré au commerce en gardant le secret de sa fabrication. D'après M. Fischer, ce ne serait que le résidu sans valeur de la fabrication du phénol par distillation du goudron de houille. Esmarch qui, ne se fiant pas aux promesses du prospectus, l'a étudiée pour ses propriétés bactéricides, a vu que les bacilles du choléra y périssaient après 1 minute d'immersion dans une solution à 1/2 0/0; le *staphylococcus aureus*, après 4 jours d'immersion dans la solution à 2 0/0, et que les spores charbonneuses résistaient à 20 jours de séjour dans la solution à 5 0/0. M. Jaeger a étudié une solution à 10 0/0 qui ne tue pas, après 1 minute d'immersion, les spores charbonneuses, mais détruit la virulence du bacille tuberculeux en cultures ou en crachats. Une solution à 5 0/0 suffit même pour cela. Une solution à 2 0/0 n'a pas d'effet constant sur les bacilles des cultures, mais détruit les autres. La solution à 1 0/0 est inerte sur tous. M. Forster a comparé à cette créoline de Pearson une autre créoline livrée par une fabrique d'Amsterdam, et a constaté qu'elles se ressemblaient beaucoup par leurs propriétés.

A côté de la créoline on peut mettre la crésoline, tout aussi peu connue, mais qui est bien de la même famille. Des solutions à 10 0/0 respectent les spores charbonneuses et les bacilles tuberculeux après 1 minute d'immersion, mais détruisent la virulence des bacilles des crachats.

C'est donc dans le groupe des dérivés du goudron que nous trouvons le plus de substances exerçant une action sur le bacille tuberculeux. Quelques-unes même semblent plus actives sur lui que sur les spores charbonneuses. Sans doute, il y a des contradictions, qui tiennent peut-être à la présence ou à l'absence de spores dans les bacilles tuberculeux que l'on soumet à la désinfection, mais même en tenant compte de toutes ces discordances, la conclusion qui résulte de l'ensemble des faits précédents n'en est pas moins solide. Le bacille de la tuberculose, si résistant vis-à-vis des alcalins, est au contraire sensible à l'action de quelques-uns au moins des corps de la série aromatique.

C'est le cas de passer en revue cet ordre d'antiseptiques. Nous pouvons le faire en prenant pour guide un très bon travail de M. C. Fraenkel, dans lequel le microbe d'épreuve est précisément cette spore charbonneuse si résistante, capable de supporter 20 minutes de séjour dans une solution de sublimé à 1 0/0, et 40 jours dans une solution de phénol à 5 0/0.

De ce résultat, comme de ceux de M. Koch, on peut conclure que le phénol est une substance bien inerte sur les spores charbonneuses. On sait que Laplace nous a appris à la rendre plus active en la mélangeant avec son volume d'acide sulfurique. La température s'élève pendant le mélange, qui reste liquide et sirupeux. Si, au contraire, on refroidit de façon à prévenir tout échauffement, le mélange se prend en masse et donne de l'acide phénylsulfurique qui cristallise. M. Fraenkel a étudié des solutions à 1 0/0, à 2 0/0 et à 5 0/0 de chacun de ces deux mélanges, comparativement à des solutions pareilles d'acide orthophénylsulfurique et paraphénylsulfurique. Voici les durées de séjour nécessaires pour stériliser un fil chargé de spores, maintenu plongé dans chacune de ces solutions :

	1 %	2 %	3 %
Ac. phénylsulfurique prép. à froid.	plus de 40 j.	40 jours.	3 jours.
Ac. phénylsulfurique prép. à chaud	id.	id.	10 jours.
Ac. orthophénylsulfurique.	40 jours.	18 jours.	3 jours.
Ac. paraphénylsulfurique . .	plus de 40 j.	plus de 40 j.	12 jours.

Il y a deux remarques principales à faire sur ce tableau. La pre-

mière, c'est que le mélange préparé à froid est plus actif que le mélange préparé à chaud. La seconde est que les divers acides *ortho* ou *para* n'ont pas la même puissance. Leur composition est pourtant la même; ils ne diffèrent que par l'arrangement moléculaire, c'est-à-dire par celle des molécules d'hydrogène du groupe benzine qui est remplacée par des produits de substitution, mais de ce changement d'arrangement moléculaire dépendent des changements dans les propriétés antiseptiques, de même qu'on voit, dans les curieuses expériences de M. Grimaux, la production de matières colorantes bleues être le privilège d'un des groupes *méta*, *ortho*, *para*, à l'exclusion des autres.

L'acide orthophénylsulfurique est l'aseptol. M. Hueppe, qui l'a étudié sous ce nom, le préfère à l'acide phénique comme moins caustique et plus soluble dans l'eau, mais en comparant ses résultats à ceux de Koch, il ne le trouve pas supérieur comme désinfectant. C'est peut-être que les spores charbonneuses sur lesquelles ont opéré ces deux savants, et qui servent de terme de comparaison, ne sont pas identiques. Cette supériorité est au contraire évidente dans les essais de M. Fraenkel, où la comparaison a porté sur les mêmes spores.

Recommençons maintenant les mêmes essais avec des mélanges, en mêmes proportions, d'acide sulfurique et d'acide carbolique brut, nous pourrons construire, comme ci-dessus, le tableau suivant, où nous faisons entrer en ligne de comparaison l'acide phénique pur et l'acide sulfurique employés aux mêmes doses :

	1 %	2 %	3 %
Mélange préparé à froid. .	53 jours.	18 jours.	1 jour.
Id. id. à chaud .	Plus de 53 j.	28 jours.	9 jours.
Acide phénique pur	id.	Plus de 53 j.	53 jours.
Acide sulfurique pur. . . .	id.	53 jours.	id.

Il suffit de comparer les deux premières lignes des deux tableaux pour voir que les mélanges faits avec l'acide carbolique sont plus actifs qu'avec l'acide phénique. On voit aussi que cette augmentation d'activité du phénol, par son mélange avec l'acide sulfurique, ne peut pas être expliquée par l'action de l'acide sulfurique qui, seul, est à peine plus actif que le phénol.

Il faut donc qu'il y ait dans l'acide carbolique des produits doués d'un pouvoir désinfectant supérieur à celui de l'acide phénique. Cet acide carbolique est le résidu de la distillation des huiles lourdes de goudron de houille dont on a retiré le phénol; il contient surtout des homologues de ce phénol, le crésol, le xylénol, le gaïacol, etc.

Si on le soumet à la distillation, on en sépare, de la température de 180° à laquelle distille le phénol, jusqu'à 205°, les divers isomères du crésol $C^6H^4.CH^3.OH$ qui ne diffère du phénol $C^6H^5.OH$, qu'en

ce qu'une molécule d'hydrogène du noyau benzine est remplacée par une molécule de méthyle CH^3 : c'est le phénol du toluène. En passant par la toluidine, on peut en séparer l'ortho, le méta et le paracrésol, substances insolubles dans l'eau, mais dont on peut faire des émulsions à 5 %, et qui, étudiées en cet état par M. Fraenkel, se sont montrées faiblement, mais à peu près également actives. Elles détruisent les spores charbonneuses en 5 ou 6 jours; le métacrésol tenant un peu la tête. Puis vient le paracrésol, et enfin l'orthocrésol.

En les mélangeant avec leur poids d'acide sulfurique concentré, on obtient des substances solubles dans l'eau, que M. Fraenkel a étudiées, en solution de 1, 2 et 4 %, par comparaison avec le même mélange d'acide sulfurique et d'acide carbolique brut.

		1 %	2 %	3 %
Mélange avec	l'orthocrésol . . .	Plus de 6 j.	Plus de 6 j.	20 heures.
Id.	le métacrésol. . .	id.	2 jours.	8 heures.
d.	le paracrésol. . .	id.	Plus de 6 j.	10 heures.
Id.	l'acide carbolique	id.	id.	2 jours.

L'ordre est le même qu'avec les substances pures, mais la puissance est bien plus grande; elle est même supérieure à tout ce que nous avons vu jusqu'ici, car voici que nous obtenons avec le métacrésol, en 8 heures, ce qui demandait 40 jours dans l'acide phénique au même titre. Le pouvoir antiseptique a donc en somme augmenté quand nous avons passé du phénol au crésol.

Monterait-il encore en prenant des homologues du phénol encore moins volatils? Il semble que non. En poussant au delà de 225° la distillation d'où il avait retiré le crésol brut de son expérience, M. Fraenkel a obtenu des produits encore impurs, mais dont le mélange avec l'acide sulfurique se montrait moins actif que celui de la partie qui contenait les homologues du crésol.

A quoi faut-il attribuer maintenant cette augmentation d'activité du crésol produite par la présence de l'acide sulfurique? Se forme-t-il des combinaisons crésylsulfuriques, analogues aux combinaisons phénylsulfuriques? M. Fraenkel croit que non. Il est certain que le crésol forme des sels sulfoconjugués moins facilement que le phénol. Il est certain aussi qu'en essayant des acides crésylsulfuriques divers, il les a trouvés encore très actifs, mais moins que les mélanges de crésol et d'acide sulfurique ci-dessus étudiés. Mais l'étude de ce problème est difficile, parce que ces acides crésylsulfuriques sont encore mal connus.

Au point de vue pratique, les faits qui précèdent ont évidemment une grande importance. Il est vrai que tous ces crésols sont des substances chères, mais M. Fraenkel montre qu'on peut obtenir presque

les mêmes effets par un mélange d'acide sulfurique avec le crésol brut de toluidine, qu'on trouve dans les fabriques de produits chimiques. En six heures, une solution à 5 0/0 de ce mélange tue les spores charbonneuses. Une solution à 0,05 0/0 100 tue en cinq minutes le microbe de l'érysipèle et le *Bac. pyocyaneus*. Une solution à 0,3 0/0 tue en cinq minutes le *Staph. pyogenes aureus*. Il y a évidemment à tenir compte, dans l'interprétation de ces résultats, de la cause d'erreur générale relevée par M. Geppert, et que M. Fraenkel n'a pas diminuée, même en prenant la précaution de n'opérer qu'avec des liqueurs bien filtrées et limpides. Le fil qu'on y plongeait rapportait évidemment dans le milieu d'ensemencement une partie de l'antiseptique. Mais, même avec cette réserve, ces substances sont encore des plus actives que nous connaissions.

Pour obtenir ces bons résultats avec le crésol brut de toluidine, il faut empêcher le mélange de s'échauffer quand on le prépare. Nous avons vu qu'en général les mélanges faits à froid étaient plus actifs que faits à chaud. L'explication de cette particularité n'est pas facile à donner, et celle de M. Fraenkel ne me semble pas satisfaisante. Contentons-nous d'enregistrer le fait, nous en trouverons plus tard l'explication.

Mais si grand que soit l'intérêt pratique de ces conclusions, elles nous intéressent surtout au point de vue théorique, parce que nous y avons vu nettement apparaître l'influence de la complication moléculaire des isomères sur leur pouvoir antiseptique.

En résumé, l'étude des alcalis nous a fait entrevoir des propriétés de classe, celle des dérivés du goudron de houille des propriétés de genre, celle des phénols et des crésols des propriétés de famille. Si on veut voir entrer en scène des variations individuelles, il n'y a qu'à se reporter à l'étude que j'ai faite, il y a deux ans, sur les propriétés antiseptiques de l'iodoforme.

J'y avais fait voir, en somme, en m'appuyant sur les travaux publiés jusque-là, que l'iodoforme était un antiseptique quand il donnait en se décomposant de l'iode, et qu'il était un corps inerte quand il n'en donnait pas. Parmi les causes qui provoquent cette décomposition, il y en a une que je n'avais qu'effleurée, et qui a pris depuis beaucoup d'importance, à la suite des travaux de M. Behring, c'est l'action réductrice des bactéries avec lesquelles l'iodoforme entre en contact. Les bacilles du charbon virulent ne souffrent pas du contact de ce corps, parce qu'ils n'en dégagent par d'iode. Au contraire, les bacilles en virgule du choléra sont rapidement tués par lui, parce qu'ils ont un énergique pouvoir réducteur. L'iodoforme sera donc de préférence un poison pour les anaérobies, non pour les aérobies. Il restera sans action sur les ulcérations superficielles, ou les suppurations telles que

celle qui accompagne l'inflammation érysipélateuse, mais dans une blessure profonde dont le pus est plus ou moins putride, il manifestera ses bons effets.

Voilà donc une nouvelle forme de la conception d'antiseptique, et à côté de ceux que leur stabilité défend contre toute décomposition, et qui sont éliminés en nature par les urines, il faut placer ceux qui peuvent, à l'occasion, subir dans le corps une décomposition qui les rend actifs. Tel est l'iodoforme. A côté de lui, ou plutôt lui faisant face, il faudrait mettre les corps tels que le bichlorure de mercure, capables, dans un milieu réducteur, de devenir du protochlorure, et de passer, à l'inverse de l'iodoforme et dans le même milieu, de l'état de corps actif à l'état de corps inactif. Non loin d'eux, il faudrait réserver une place pour le salol, qui peut traverser intact l'estomac pour aller se décomposer en ses deux éléments, acide salicylique et phénol, dans l'intestin, grâce aux diastases qu'il y rencontre. Le salol, de son côté, ne peut pas se séparer du tribromophénol, qui ne se décompose et ne devient actif que dans les milieux alcalins. Enfin, il faudrait mettre vis-à-vis de ce tribromophénol les corps tels que l'acide salicylique ou les acides phénylsulfuriques, plus actifs à l'état acide qu'à l'état de sel.

Bref, si en commençant l'étude des antiseptiques on pouvait croire avoir devant soi des allées plantées en quinconces, nous voyons aujourd'hui que c'était un bois touffu. On y a longtemps erré à l'aventure, mais voici qu'on commence à y tracer des chemins, et même que ces chemins se coupent, comme nous l'avons vu, pour nous ouvrir quelques perspectives d'ensemble. Elles sont encore coufuses, ce n'est pas le plein soleil qui les éclaire, mais elles ne m'en ont paru que plus intéressantes à faire passer sous les yeux de nos lecteurs.

Dx.

S. Pansini. Action de la lumière solaire sur les microorganismes. *Rivista d'Igiene*, 1889.

Les *Annales* ont déjà publié (t. I, p. 88) une revue critique des travaux publiés jusqu'en 1887, au sujet de l'action de la lumière solaire sur les microbes. Elles ont inséré en outre, pages 363 et 594 du même volume, deux communications de M. Roux et de M. Arloing sur la même question. Pour tenir nos lecteurs au courant, nous avons à leur résumer les conclusions du travail mentionné en tête de cet article, et à les rapprocher de celles auxquelles est arrivé de son côté M. Gaillard [1], dans une thèse de doctorat dont nous n'avons pas parlé quand elle a paru.

1. De l'influence de la lumière sur les microorganismes. Lyon, 1888.

M. Pansini a fait ses expériences à Naples, ville éclairée, comme on sait, par un tout autre soleil que Lyon, de sorte qu'on se demande de suite dans quelle mesure les effets calorifiques des rayons solaires se sont superposés aux effets lumineux pour produire les résultats observés. M. Pansini fait observer à ce sujet qu'il a opéré à la Station zoologique, située au bord de la mer, où une brise continue maintient une fraîcheur relative. Il a opéré également en été, en automne, et en hiver quand le temps l'a permis, sans voir changer ses résultats. Enfin, il a toujours eu la précaution de faire deux expériences comparatives, l'une à la lumière, l'autre à l'obscurité, c'est-à-dire sous un verre noirci exposé au soleil en même temps que le verre transparent sur lequel portait l'étude. La différence de température entre ces deux essais comparatifs ne dépassait pas un degré, à l'avantage du verre noirci, quand la température intérieure de celui-ci ne dépassait pas 30°. Elle était de 2 à 3° quand la température montait de 30 à 40°, de 2 à 4° quand la température s'élevait au chiffre de 45°, qu'elle n'a jamais dépassé. Ces observations concordent avec celles de Downes, et les différences de température observées sont trop faibles pour expliquer la différence notable des résultats. On sait d'ailleurs, surtout par les expériences de M. Arloing, que l'on peut, en maintenant dans la glace la préparation soumise aux rayons solaires, séparer complètement de l'effet calorifique l'effet lumineux, qui conserve alors presque toute son activité.

Cette première question vidée, M. Pansini a employé trois méthodes différentes pour étudier l'action de la lumière. Il a exposé au soleil, soit des ensemencements récents de divers microbes sur divers milieux, soit des cultures toutes faites et bien développées, soit des gouttelettes de cultures dans du bouillon, disposées comme dans la méthode des gouttes pendantes. La seconde de ces méthodes, celle de l'exposition au soleil de cultures toutes faites sur gélose ou pomme de terre, est évidemment inférieure aux deux autres, à cause de l'épaisseur de la culture, et de son opacité, qui empêche l'action solaire de se produire également sur tous les points. Je ne parlerai donc que des résultats des deux autres.

La première se comprend sans explications. On exposait au soleil, dans une position verticale, ou inclinée et normale aux rayons solaires, des tubes, fermés avec de la ouate, et renfermant des ensemencements faits sur gélatine, sur gélose ou sur pomme de terre. Ces tubes étaient les uns opaques, les autres transparents. Toutes les demi-heures, par exemple, on enlevait un tube à chacun des groupes, et on le rapportait à l'étuve pour observer son développement.

D'une manière générale, on trouve ainsi que la lumière a toujours

une action retardatrice qui finit par devenir mortelle, et cela d'autant plus rapidement que les rayons solaires ont frappé plus normalement la surface à stériliser. Mais la rapidité varie, comme on le savait déjà, avec le microbe et avec le milieu. Le *Bacillus pyocyaneus* par exemple est plus résistant en général que le *B. prodigiosus*. Le *B. anthracis*, qui est un des plus sensibles parmi les microbes pathogènes, est stérilisé en quatre ou cinq heures d'exposition sur pomme de terre, il en exige six à sept sur gélose. Les ensemencements du *B. pyocyaneus*, du *Staphylococcus albus* périssent au contraire plus rapidement sur gélose. On observe des faits analogues quand l'action de la lumière n'a pas amené la mort, mais a simplement produit des retards dans le développement. Enfin l'effet observé est dû à une action sur les microbes, et non à une action simultanée sur les microbes et leur milieu de culture, car celui-ci, ensemencé à nouveau après une exposition au soleil, se montre aussi fécond qu'avant.

Ces conclusions sont d'accord avec celles de M. Gaillard, qui, elles-mêmes, confirmaient celles des travaux antérieurs. Nous allons trouver quelques notions un peu plus nouvelles dans l'examen de la méthode des gouttes pendantes, employée par M. Pansini. La goutte de bouillon contenant des microbes était placée sur une lamelle renversée sur une petite cuvette, et scellée sur ses bords avec de la vaseline. Après un certain temps d'exposition au soleil, on l'enlevait, on la nettoyait de sa vaseline adhérente, et on l'immergeait dans de la gélatine nutritive dans laquelle on l'agitait, de façon à bien répartir ses microbes dans la masse, qu'on étalait ensuite sur une lame de verre pour en faire la numération selon les méthodes connues.

On pouvait ainsi voir, d'une façon plus précise que cela n'avait été fait jusqu'ici, comment se faisait la destruction des microbes. Était-elle brusque, simultanée pour tous les habitants d'une même culture, ou bien, comme cela était plus probable à raison de tout ce que nous avons appris peu à peu sur eux, y avait-il, chez ces descendants d'une même origine, des inégalités de résistance, et comment se distribuaient-elles ? Comme réponse à ces questions, je citerai l'une des expériences de M. Pansini, un peu plus complète que les autres. Elle a porté sur le *B. anthracis*, et a été faite en exposant le 12 mai, à une température qui a varié de 32 à 40°, 12 cultures en gouttes pendantes, dont on a retiré une toutes les dix minutes pour compter ses germes par la méthode des plaques. Le lendemain on comptait 2,520 colonies provenant de la lamelle exposée à la même température, mais à l'obscurité. Il n'y en avait encore aucune avec les lamelles exposées au soleil. Le surlendemain on relevait sur ces dernières les chiffres suivants :

Lamelle	exposée	10 minutes	au soleil	360	colonies.
—	—	20	—	130	—
—	—	30	—	4	—
—	—	40	—	3	—
—	—	50	—	4	—
—	—	60	—	5	—
—	—	1 h. 10, et suivantes		0	—

On voit nettement sur ce tableau que la destruction des microbes est surtout rapide pendant les premières minutes, mais qu'elle respecte un petit nombre d'individus, plus résistants, qui mettent trois et quatre fois plus de temps à éprouver les effets de l'action solaire. Malheureusement, dans cette expérience, on n'a pas assez séparé les effets calorifiques des effets purement lumineux. Dans d'autres expériences, faites à des températures plus basses, les effets sont du même ordre. Mais il serait curieux de creuser la question, et d'étudier plus par le menu la vitesse de destruction des divers bacilles d'une même culture, en séparant aussi complètement que possible l'effet calorique de l'effet lumineux.

Les différences de résistance que viennent de nous révéler les expériences précédentes sont tout à fait d'accord avec celles qu'a établies l'étude, faite par M. Roux [1], de l'action de la chaleur sur la bactéridie. On ne peut pas les rattacher au phénomène de la sporulation. M. Pansini s'est assuré en effet, d'un côté que la lumière retarde la formation des spores, de l'autre que les spores sont un peu moins résistantes que les bacilles charbonneux, sans que cependant les différences soient aussi sensibles que celles qu'ont relevées les expériences de M. Arloing et de M. Gaillard. Ces différences tiennent sans doute à ce que, dans les expériences de M. Pansini, le bouillon de culture n'était pas exposé au soleil en même temps que les spores. Quoi qu'il en soit. M. Pansini a vu les spores dans du bouillon mourir entre trente minutes et deux heures d'exposition, pendant que les bacilles, dans les mêmes conditions, mouraient entre une heure et deux heures et demie.

A sec, les spores de bactéridie sont plus résistantes. Et elles sont plus résistantes, non pas qu'il n'en périsse beaucoup dans les premières heures de l'exposition, mais parce qu'il y en a qui exigent un temps beaucoup plus long. C'est ce que montre le tableau suivant, dont la signification est la même que celle de celui qui précède. Les spores avaient été exposées à sec sur une lamelle couvre-objet.

1. V. ces *Annales*, t. I, p. 392.

Lamelle exposée à l'obscurité			1015 colonies.	
—	30 minutes à la lumière		396	—
—	1 heure	—	208	—
—	2 heures	—	48	—
—	3 —	—	30	—
—	4 —	—	34	—
—	5 —	—	8	—
—	6 —	—	3	—
—	7 —	—	3	—
—	8 heures et plus		0	—

Ces faits sont les plus intéressants du mémoire de M. Pansini. Au sujet de l'action de la lumière solaire sur le pigment des bactéries chromogènes, il confirme ce qu'avaient déjà vu M. Gaillard et d'autres expérimentateurs sur le retard apporté à la production de la coloration. Enfin, au sujet de l'atténuation du bacille charbonneux sous l'action de la lumière, M. Pansini a été moins heureux que les savants qui l'ont précédé; il trouve bien que la lumière, avant de tuer le microbe, en atténue la virulence, mais il n'a pas réussi à transformer en vaccin efficace ce microbe atténué, qui, du reste, n'était pas atténué dans le sens propre du mot, attendu qu'il reprenait sa virulence dans les cultures successives.

Dx.

F. Gebhart. Influence de la dilution sur l'activité du virus tuberculeux. *Münch. Med. Wochenschr.*, 1889, p. 731.

Nous résumons ci-dessous, d'après une communication récente de M. Bollinger au congrès des naturalistes de Wiesbaden, un intéressant travail de M. Gebhart. On sait que M. Hirschberger[1] a récemment montré que les vaches tuberculeuses donnent, dans 55 0/0 des cas, un lait infectieux. Comme la tuberculose n'est pas rare dans les vacheries, même dans celles qui ne sont pas soumises au régime de la stabulation permanente, il y avait à se demander si le lait d'une seule vache tuberculeuse rendait dangereux le lait de la vacherie. En d'autres termes, à quel degré de dilution faut-il amener un lait renfermant des bacilles tuberculeux pour qu'il devienne inoffensif.

Dans la solution de cette question, le mode de contagion joue un rôle capital. M. Gebhart a choisi l'injection intra-péritonéale, ce qui semble nous éloigner des conditions de la pratique; mais nous allons

1. Contribution expérimentale à l'étude du caractère infectieux des vaches tuberculeuses. *Deutsch. Archiv. f. klin. Med.*, 1889, p. 500.

y revenir. Une première série d'essais faite avec des laits achetés sur le marché de Munich lui a montré que ces laits, injectés à la dose de deux centimètres cubes dans le péritoine des cobayes, se montraient inoffensifs. Il a ensuite essayé du lait recueilli à l'abattoir, dans les mamelles saines d'une vache tuberculeuse, et a trouvé que sa virulence disparaissait quand on l'étendait dans un cas de 40, dans un autre de 50, dans un troisième de 100 fois son volume d'eau.

La dilution diminue donc et finit par éteindre la virulence. Mais cela ne prouve pas que l'usage longuement continué de ces dilutions ne puisse devenir dangereux, et il reste toujours prudent de faire bouillir au préalable tout le lait qu'on consomme.

La dilution diminue beaucoup moins la virulence des crachats tuberculeux, qui ne disparaît pas quand on les étend de 100,000 fois leur volume d'eau, et quel que soit le mode d'infection (inhalation, injection sous-cutanée ou intra-péritonéale). Le court résumé que nous avons sous les yeux ne dit pas en quelles quantités ces dilutions ont été opérées, et comment on s'est assuré des doses inhalées. Ce sont là des détails importants qu'il faudra chercher dans le mémoire que publieront les Annales de Virchow.

Comme ces crachats renferment des quantités très variables de bacilles, et probablement aussi, des bacilles très inégalement virulents, on a recommencé les expériences avec des cultures pures de bacilles tuberculeux, en ayant soin d'opérer toujours à peu près sur la même quantité de bacilles. M. Gebhart a ainsi obtenu des résultats positifs, tant avec l'injection sous-cutanée d'un centimètre cube d'une dilution au $1/40.000^{e}$ d'une culture, que par l'ingestion de $0^{cc},5$ de la même dilution. L'évolution de la maladie est d'autant plus lente que le virus est plus dilué, et en cherchant, au moyen d'une numération nécessairement approximative, le nombre de bacilles d'un crachat suffisant pour donner la tuberculose à un cobaye, M. Gebhart est arrivé au chiffre de 820.

Au sujet du mode d'infection, il a vu que c'était par le canal digestif qu'il y avait le plus de résistance. Le tissu conjonctif sous-cutané, le péritoine et les poumons sont beaucoup plus accessibles, et le sont à peu près également. Dans l'injection intra-péritonéale, le péritoine restait intact dans les deux tiers des cas, alors que le virus s'était développé dans les ganglions lymphatiques et dans la rate. Ces deux tissus sont d'ordinaire envahis les premiers. Puis viennent les poumons, le foie, et en dernière ligne les reins et les parties génitales. La localisation de la maladie est souvent indépendante du lieu de pénétration : c'est ainsi que la tuberculose des poumons ne suit pas toujours une infection par inhalation.

De l'ensemble de ces recherches il faut conclure qu'une dilution peut être encore virulente, alors que les bacilles tuberculeux y sont trop épars pour être reconnaissables au microscope. L'inoculation est un moyen bien plus sûr de diagnostic pour le bacille tuberculeux que l'examen microscopique le plus soigneux.

Dx.

A. Bertschinger. Recherches sur l'action des filtres de sable dans l'alimentation d'eau de Zurich. *Vierteljahresschr. d. Naturf. Gesell.*, t. XXXIV, 1889.

La ville de Zurich puise ses eaux dans son lac, en allant les chercher à peu près à 300 mètres des deux rives. Ces eaux, comme celles de la plupart des lacs, sont relativement pures, et pour plus de précaution on les fait passer, avant de les envoyer dans la canalisation urbaine, à travers de grands filtres à sable, d'une surface filtrante de plus de trois hectares, et formés de 35 centimètres en moyenne de sable plus ou moins grossier, surmontés d'une couche de 80 centimètres de sable fin. C'est l'action de ces filtres que M. Bertschinger a étudiée en comparant l'eau du lac au voisinage de la prise d'eau avec celle que fournissent les filtres.

Cette étude a été à la fois chimique et bactériologique. De l'étude chimique nous ne dirons rien, sinon qu'elle produit (nous chercherons bientôt par quel mécanisme), une purification relative de l'eau du lac en lui enlevant un peu de ses matières organiques. Mais son effet est très médiocre. L'étude bactériologique mérite de nous arrêter un peu plus longtemps, parce que quelques-uns de ses résultats sont en désaccord avec ce qu'on croyait savoir jusqu'ici.

A la suite de l'expérience acquise par l'Institut d'hygiène de Berlin, M. Koch avait écrit à la commission des eaux de Zurich « qu'on ne pouvait espérer une stérilisation de l'eau qu'en s'adressant à des filtres bien construits, ayant $1^{m},50$ d'épaisseur filtrante (sur laquelle environ 1 mètre de sable réellement filtrant), encore ne faut-il pas demander à ces filtres, en moyenne, plus de 3 mètres cubes d'eau par mètre carré de surface filtrante. »

Dans cette réponse, on voit apparaître à la fois la question d'épaisseur et la question de vitesse. Appelons vitesse la hauteur de liquide fourni en 24 heures par un mètre carré de surface filtrante, la vitesse ne doit pas, d'après M. Koch, dépasser 3 mètres. On ne dépasse jamais cette limite dans l'alimentation des eaux de Berlin.

Or voici que M. Bertschinger, en opérant sur les filtres de Zurich,

ne trouve pas de différences moyennes sensibles dans la puissance des filtres, lorsque la vitesse varie de $0^{m},2$ à 28 mètres. Il est juste de dire que l'eau du lac de Zurich est en moyenne beaucoup moins riches en germes que les eaux d'alimentation de la ville de Berlin.

Un autre fait, qui ne se confond pas avec le précédent, c'est que, si faible que soit la vitesse, à Berlin comme à Zurich, l'eau qui sort n'est jamais privée de germes. Il y en a une quantité minimum au-dessous de laquelle il est rare de voir les chiffres s'abaisser. C'est ce qu'ont remarqué tous les observateurs. En d'autres termes, l'action du filtre ne se résume pas dans un pourcentage plus ou moins grand. Peu importe que l'eau qu'on verse sur le filtre renferme 100 ou 100,000 germes par centimètre cube; celle qui sort n'en renferme plus que quelques unités, si le filtre fonctionne bien, mais elle en renferme toujours.

A quoi attribuer ce fait? Comment se fait-il, par exemple, qu'une eau de la Sprée, qui contient plusieurs milliers de germes à l'entrée, les perde tous, sauf une centaine, qu'elle retient obstinément? Il semble naturel d'en conclure que le filtre à sable est un filtre imparfait, et on ne voit pas vraiment pourquoi les savants qui en ont étudié le fonctionnement se refusent à cette conséquence. Piefke s'en prend à l'impureté des dernières couches du sable traversé; Plagge et Proskauer aux germes apportés par le matériel, les tuyaux de conduite ou même l'air. M. Bertschinger est à la fois de l'avis du premier et de celui des autres. Il montre que les couches profondes du sable ne peuvent pas être stériles, puisque le sable n'a pas été stérilisé, et qu'il y a plus de bactéries dans l'eau qu'on prend sur la canalisation que dans celle qu'on puise au-dessous des filtres. Nul doute qu'il ne puisse se produire une multiplication des microbes, comme on l'a si souvent observé; mais les origines des impuretés sont autres. Cette question est trop importante pour que nous songions à la traiter ici. Nous lui consacrerons une prochaine *Revue critique*.

Dx.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE [1] DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — NOVEMBRE 1889.

	A			B			C		
Morsures à la tête et à la figure { simples	»	1	1	»	2	6	»	»	1
Morsures à la tête et à la figure { multiples	»	»		»	4		»	1	
Cautérisations efficaces	»	»	»	»	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	1	»	»	3	»	»	»	»	»
Pas de cautérisation	»	»	»	3	»	»	1	»	»
Morsures aux mains { simples	»	3	10	»	29	60	»	3	8
Morsures aux mains { multiples	»	7		»	31		»	5	
Cautérisations efficaces	»	»	»	2	»	»	1	»	»
— *inefficaces*	6	»	»	25	»	»	4	»	»
Pas de cautérisation	4	»	»	33	»	»	3	»	»
Morsures aux membres et au tronc { simples	»	2	7	»	17	31	»	1	6
Morsures aux membres et au tronc { multiples	»	5		»	14		»	5	
Cautérisations efficaces	1	»	»	2	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	5	»	»	10	»	»	5	»	»
Pas de cautérisation	1	»	»	19	»	»	1	»	»
Habits déchirés	6	»	»	29	»	»	5	»	»
Morsures à nu	1	»	»	2	»	»	1	»	»
Morsures multiples en divers points du corps	»	2	2	»	2	2	»	1	1
Cautérisations efficaces	»	»	»	1	»	»	»	»	»
— *inefficaces*	»	»	»	»	»	»	1	»	»
Pas de cautérisation	2	»	»	1	»	»	»	»	»
Habits déchirés	1	»	»	1	»	»	1	»	»
Morsures à nu	2	»	»	1	»	»	1	»	»
Totaux. { Français et Algériens	..	19	20	..	78	99	..	15	16
Totaux. { Etrangers	..	1		..	21		..	1	
		A			B			C	
TOTAL GÉNÉRAL					135				

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; la colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; la colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 125 fois ; chats, 7 fois ; chacal, 2 fois ; porc, 1 fois.

TABLE DES MATIÈRES.

FIN DE LA TABLE DES MATIÈRES.

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

MÉMOIRES ORIGINAUX.

REVUES ET ANALYSES.

REVUES CRITIQUES.

STATISTIQUES DE L'INSTITUT PASTEUR.

PLANCHES HORS TEXTE.

FIN DE LA TABLE ALPHABÉTIQUE.

Le Gérant : G. Masson.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX
MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

N° 1. — 25 Janvier 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. **DUCLAUX**, 15, rue Malebranche, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. **MASSON**.

MM. les abonnés sont prévenus qu'à moins d'avis contraire, ou d'envoi par eux du prix d'abonnement, il leur sera présenté dans le courant de février un mandat pour le renouvellement de leur abonnement pendant l'année 1889.

SOMMAIRE DU N° 1

2

ARCHIVES

DE

MÉDECINE EXPÉRIMENTALE

ET

D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE

PUBLIÉES

Sous la Direction de M. CHARCOT

PAR MM.

GRANCHER, professeur à la Faculté de Médecine de Paris.
LÉPINE, professeur à la Faculté de Médecine de Lyon.
STRAUS, professeur à la Faculté de Médecine de Paris.
JOFFROY, professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris.

Les **Archives de Médecine expérimentale et d'Anatomie pathologique** paraissent tous les deux mois à partir du 1er janvier 1888 et forment chaque année un volume d'environ 700 pages avec planches en noir et en couleurs.

PRIX DE L'ABONNEMENT ANNUEL

Paris, **24** fr. — Départements, **25** fr. — Union postale, **26** fr.

Il est fait aux abonnés des **Archives de Physiologie** une réduction de 4 francs sur le prix des deux abonnements.

SOMMAIRE DU N° 1

CE NUMÉRO CONTIENT 4 PLANCHES HORS TEXTE

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE M. PASTEUR

PAR

M. E. DUCLAUX
MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

No 2. — 25 Février 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. DUCLAUX, 15, rue Malebranche, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON

SOMMAIRE DU N° 2

M. Duclaux commencera son cours de chimie biologique, à l'Institut Pasteur, le mardi 19 mars. Il traitera de la fermentation alcoolique.

M. Roux commencera son cours pratique le 15 mars. Les places disponibles pour ce cours sont au nombre de 14. Les personnes qui désirent le suivre doivent se faire inscrire au bureau de l'économat de l'Institut Pasteur, où elles trouveront tous les renseignements nécessaires. La durée de ce cours sera de cinq semaines. Le laboratoire sera ouvert aux personnes qui le suivent, de 9 heures du matin à 5 heures du soir.

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX
MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

N° 3. — 25 Mars 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. DUCLAUX, 15, rue Malebranche, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON.

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

SOMMAIRE DU N° 3

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

N° 4. — 25 Avril 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. **DUCLAUX**, 15, rue Malebranche, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. **MASSON**.

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

SOMMAIRE DU N° 4

2



PANSEMENT ANTISEPTIQUE

DES PLAIES, BLESSURES, AMPUTATIONS, ETC.

Par la méthode de M. le professeur LISTER, d'Édimbourg

DESNOIX

Pharmacien de 1re classe.

17, *Rue Vieille-du-Temple*, 17

PARIS

Fournisseur des hôpitaux civils et militaires

Catgut, nos 00, 0, 1, 2, 3, 4 (chaque flacon ne contient qu'un numéro). le flacon.	1 25
Catgut à l'acide chromique (mêmes nos que ci-dessus), le flacon	1 25
Protective (Silck protectif), le rouleau de 1 mètre	1 10
Mackintosh, le mètre carré	4 50
Gaze phéniquée antiseptique, le paquet de 4 mètres	2 »
d° au thymol. — — —	4 »
d° à l'iodoforme, le mètre	2 50
d° boracique, le paquet de 4 mètres	2 »
Soie phéniquée, qui est quelquefois nécessaire pour les ligatures externes, nos 0, 1, 2, 3, 4, la boîte de 10 mètres	» 80
Crins de Florence, le cent	2 50
Tubes à drainages de Chassaignac, la boîte de 1 mètre	» »
d° d° en flacon, le flacon	1 50
Coton pur (dit hydrophile), le kilo	7 »
d° salicylé, le kilo	9 »
d° phéniqué, le kilo	8 »
d° chloralé, le kilo	8 »
Lint, le paquet de 450 grammes	4 50
Lint boracique, le mètre	1 50
Solutions phéniquées à 25 et 50 grammes pour mille	» »
Acide phénique pur glacial, le kilo	3 50
Phénol absolu, le kilo	8 »
Vaseline (blanche), le kilo	6
d° (phéniquée), le kilo	8 »
Onguent borique, le kilo	» »
Bandes dextrinées, la boîte de 8 mètres	2 50

Nous tenons à la disposition des chirurgiens des boîtes contenant tous les produits nécessaires à ce mode de pansement, la boîte .... 20 fr.

En outre de ces préparations, nous rappelons aux médecins et chirurgiens que nous fabriquons et vendons en gros tous les sparadraps et tissus pharmaceutiques proprement dits, et en particulier le sparadrap officinal, le diachylon gommé, le sparadrap des hôpitaux de Paris, la toile vésicante, le révulsif au thapsia et l'euphorbium, etc.

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX
MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

Et un Comité de rédaction composé de MM.

N° 5. — 25 Mai 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. DUCLAUX, 15, rue Malebranche, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON.

SOMMAIRE DU N° 5

PRÉCIS
DE MICROBIE
MÉDICALE ET VÉTÉRINAIRE

PAR MM.

Dr L.-H. THOINOT — ANCIEN INTERNE DES HOPITAUX

E.-J. MASSELIN — MÉDECIN-VÉTÉRINAIRE

vol. cartonné, de la Bibliothèque diamant, avec fig. noires et en couleurs. 6 fr.

Extrait de la Préface des auteurs :

Les ouvrages traitant des microbes et des maladies microbiennes commencent à devenir ssez nombreux en France, et cependant il nous a paru qu'un Précis, du genre de celui-ci, vait sa place marquée parmi eux, et comblerait une lacune qui nous a souvent frappés au ours de nos études.

Plusieurs de ces ouvrages publiés en France ne sont que des traductions de livres étran-ers, et ne répondent qu'imparfaitement aux besoins du lecteur français ; d'autre part, parmi s trop rares livres français, quel que soit d'ailleurs leur mérite, il n'en est pas un qui uisse être regardé comme un guide élémentaire, un manuel de laboratoire, initiant l'élève ux pratiques de la microbie, à sa technique, et à ses applications à l'étude des maladies nicrobiennes.

C'est ce guide élémentaire et pratique que nous avons voulu faire, et que nous présen-ons au public médical et vétérinaire.

Notre ouvrage se divise naturellement en deux parties : la premiere traite de la technique énérale ; la seconde est la technique appliquée à l'étude spéciale des diverses maladies nicrobiennes. Nous n'avons passé en revue qu'un nombre très limité de maladies micro-iennes ; notre excuse est simple : ce précis n'est pas un exposé complet de la microbie, et eules les maladies dont la preuve microbienne est absolument faite doivent y trouver place ; eules aussi doivent s'y rencontrer celles qui peuvent être étudiées fructueusement, et à peu rès complètement, dans le laboratoire, par l'élève.

Chaque jour voit éclore la découverte de microbes pathogènes plus ou moins fantaisistes u mal étudiés sur lesquels le silence ne tarde pas à se faire, et dont les lecteurs d'un uvrage élémentaire ne doivent avoir nul souci.

Les maladies microbiennes communes à l'homme et aux animaux, et les maladies exclu-ivement vétérinaires occupent dans ce Précis un rang beaucoup plus large que les mala-ies microbiennes exclusivement humaines : c'est qu'en effet les premières se prêtent mieux t plus complètement à l'étude de laboratoire que les secondes, la preuve expérimentale en tant toujours possible, peut-être aussi cette catégorie de maladies microbiennes nous est-lle plus familière ayant fait l'objet de préférence de nos études. Nous pensons d'ailleurs que e public médical ne nous saura pas mauvais gré d'avoir traité d'une façon plus détaillée ces naladies qu'il aura grand intérêt, croyons-nous, à connaître, même sommairement.

Ce Précis a été conçu et exécuté à l'Ecole d'Alfort, dans le laboratoire de notre cher naître M. Ed. Nocart, sous ses yeux, et tout ce qu'il peut contenir de bon, nous le lui levons certainement.

Qu'il nous permette de le remercier, et de lui donner publiquement ce témoignage de otre reconnaissance et de notre affection.

Nous devons de vifs remerciements à notre éditeur, M. Masson, qui a voulu faire de ce nodeste Précis [presque un livre de luxe où les figures en couleurs ont, pour la première ois, dans un volume de ce prix et de ce format, une large part.

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

Et un Comité de rédaction composé de MM.

CHAMBERLAND, chef de service à l'Institut Pasteur,
Dr **GRANCHER**, professeur à la Faculté de médecine,
NOCARD, directeur de l'école vétérinaire d'Alfort,
Dr **ROUX**, chef de service à l'Institut Pasteur,
Dr **STRAUS**, professeur à la Faculté de médecine.

N° 6. — 25 Juin 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. DUCLAUX, 15, rue Malebranche, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON.

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

SOMMAIRE DU N° 6

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

N° 7. — 25 Juillet 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. DUCLAUX, 35 bis, rue de Fleurus, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON.

SOMMAIRE DU N° 7

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES

DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

Et un Comité de rédaction composé de MM.

CHAMBERLAND, chef de service à l'Institut Pasteur,
Dr **GRANCHER**, professeur à la Faculté de médecine,
NOCARD, directeur de l'école vétérinaire d'Alfort,
Dr **ROUX**, chef de service à l'Institut Pasteur,
Dr **STRAUS**, professeur à la Faculté de médecine.

N° 8. — 25 Août 1889.

PARIS

G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à **M. DUCLAUX**, 35 bis, rue de Fleurus, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON.

SOMMAIRE DU N° 8

N. B. — La planche VI, ci-jointe, est destinée à remplacer la planche correspondante du numéro précédent, qu'un malentendu a fait tirer beaucoup trop pâle.

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES

DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR A LA SORBONNE

N° 9. — 25 Septembre 1889.

PARIS

G. MASSON, ÉDITEUR

LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. DUCLAUX, 35 bis, rue de Fleurus, Paris.

Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON.

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.

Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

SOMMAIRE DU N° 9

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

Et un Comité de rédaction composé de MM.

N° 10. — 25 Octobre 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. DUCLAUX, 35 bis, rue de Fleurus, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON.

SOMMAIRE DU N° 10

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.

Troisième Année. Tome III.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX

MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

N° 11. — 25 Novembre 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. DUCLAUX, 35 bis, rue de Fleurus, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON.

SOMMAIRE DU N° 11

Sceaux. — Imp. Charaire et fils

Troisième Année. Tome III.

ANNALES
DE L'INSTITUT PASTEUR

PUBLIÉES SOUS LE PATRONAGE DE **M. PASTEUR**

PAR

M. E. DUCLAUX
MEMBRE DE L'INSTITUT
PROFESSEUR A LA SORBONNE

Et un Comité de rédaction composé de MM.

CHAMBERLAND, chef de service à l'Institut Pasteur,
Dr **GRANCHER**, professeur à la Faculté de médecine,
NOCARD, directeur de l'école vétérinaire d'Alfort,
Dr **ROUX**, chef de service à l'Institut Pasteur,
Dr **STRAUS**, professeur à la Faculté de médecine.

N° 12. — 25 Décembre 1889.

PARIS
G. MASSON, ÉDITEUR
LIBRAIRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN
EN FACE DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE

Les Annales de l'Institut Pasteur forment tous les ans un volume de 6 à 700 pages, et paraissent le 25 de chaque mois.
Prix de l'abonnement : Paris : 18 francs. — Départements et union postale : 20 francs.

Toutes les communications relatives à la rédaction doivent être adressées à M. DUCLAUX, 35 bis, rue de Fleurus, Paris.
Toutes les communications relatives à l'administration, à M. G. MASSON.
MM. les abonnés sont prévenus qu'à moins d'avis contraire, ou d'envoi par eux du prix d'abonnement, il leur sera présenté dans le courant de janvier mandat pour le renouvellement de leur abonnement pendant l'année 1889.

SOMMAIRE DU N° 12

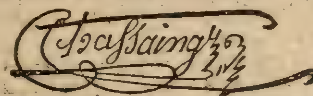
IN DE CHASSAING — Pepsine et Diastase —

Dans son Rapport sur cette préparation (mars 1864), l'Académie de Médecine de ris a déclaré qu'il n'y avait aucune incompatibilité chimique entre la Pepsine et la astase, et que l'association de ces deux ferments digestifs pouvait rendre des services a Thérapeutique.

Depuis cette époque, le **Vin de Chassaing** a conquis dans l'art de guérir une place portante. La plupart des Médecins l'ont adopté et prescrit spécialement dans le itement des *Dyspepsies*.

Peut-être, Monsieur le Docteur, avez-vous eu déjà l'occasion d'en prescrire l'emploi? rmettez-moi, dans tous les cas, de le placer sous votre patronage et de vous le commander dans les cas de : *Dyspepsie, Gastralgie, Vomissements incoercibles, Diarrhée, imentation insuffisante, Convalescences, Perte de l'Appétit, des Forces, etc.*

(Dose : un à deux verres à liqueur à chaque repas.)



PARIS, 6, avenue Victoria
ET DANS TOUTES LES PHARMACIES.

P. S. — *La Pepsine et la Diastase sont préparées par nous à notre usine d'Asnières (Seine)s ous serions heureux de vous y recevoir, et de vous faire juge des soins que nous apporton. la fabrication de nos produits et des efforts que nous avons faits pour arriver à la nne préparation des ferments physiologiques.*

Sirop de Falières — Bromure de Potassium —

Les Bromures de Potassium du Commerce sont souvent impurs et contiennent jusqu'à 0 et 40 °/° de carbonate de potasse, d'iodure de potassium et surtout de chlorure de otassium. L'Académie de Médecine de Paris l'a constaté lorsqu'en 1871 elle a donné, ur le rapport de l'un de ses Membres, M. le professeur Poggiale, son approbation xclusive au mode de préparation et de purification du Bromure de Potassium soumis ar M. Falières.

Cette préparation a donc le mérite de vous offrir un Bromure de Potassium absolument ur. Chaque cuillerée à bouche contient 2 grammes de Bromure, une cuillerée à essert 1 gramme, une cuillerée à café 50 centigrammes.

Vous en obtiendrez de bons résultats partout où l'emploi du Bromure de Potassium st indiqué.

Bromure de Potassium granulé de Falières

Chaque Flacon contient 75 grammes de sel *pur* et est accompagné d'une cuiller-mesure contenant 50 centigrammes. Cette préparation a le double avantage d'être économique et de permettre au malade de faire sa solution au moment du besoin et en se conformant à la prescription de son médecin.

PARIS, 6, avenue Victoria
ET DANS TOUTES LES PHARMACIES.

Sur votre demande, nous nous empresserons de vous adresser le Rapport de M. Poggiale soumis à l'Académie de Médecine et approuvé par elle.

Phosphatine Falières

Aliment des plus agréables et pouvant entre les mains des Médecins être un excellent adjuvant de la médication phosphatée. Il vous rendra de bons services :

Chez les enfants, surtout au moment du sevrage ; chez les femmes enceintes ou nourrices ; chez les vieillards et les convalescents.

(Une cuillerée à bouche contient 25 centigr. de Phosphate de chaux pur et ASSIMILABLE).

PARIS, 6, avenue Victoria
DANS TOUTES LES PHARMACIES.

Sceaux. — Imp. Charaire et fils.